

CARLOS ALEXANDRE WAINROBER SEGRE

**Sobre a elevação persistente de troponina em
pacientes diabéticos portadores de
doença coronária obstrutiva estável**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do título
de Doutor em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Whady Armindo Hueb

São Paulo

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Segre, Carlos Alexandre Wainrober

Sobre a elevação persistente da troponina na ausência de isquemia miocárdica em pacientes diabéticos portadores de doença coronária obstrutiva estável / Carlos Alexandre Segre. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: Whady Armindo Hueb.

Descritores: 1.Troponina 2.Diabetes Mellitus tipo 2 3.Doença da artéria coronária 4.Isquemia miocárdica 5.Peptídeo natriurético encefálico 6.Estresse oxidativo

USP/FM/DBD-387/15

DEDICATÓRIA

A meu pai, Carlos David Segre, que desde cedo me incentivou a discutir idéias.

A minha mãe, Golda Wainrober Segre, que não soube que um dia eu seria médico e hoje estaria orgulhosa.

A meus filhos, Guilherme, Renato e Catarina, como uma mensagem de fé em deus e amor ao trabalho.

Ao professor Whady Hueb, mestre e amigo.

Este projeto teve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP – número 10/52025-9.

Normatização adotada

Essa tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Perspectiva histórica	2
1.2. Troponinas e a fisiologia da contração muscular	4
1.3. Consolidação das troponinas como marcadores de infarto	6
1.4. Troponinas ultra-sensíveis	10
1.5. Troponinas como marcadores de risco na população	12
1.6. Doença coronária crônica e troponinas	16
1.7. Diabetes mellitus e troponinas	19
2. OBJETIVOS	22
3. MÉTODOS	24
3.1. Desenho do estudo	25
3.2. Recrutamento dos pacientes	25
3.3. Diagnóstico do diabetes mellitus tipo 2	26
3.4. Análise laboratorial.....	26
3.5. Determinação da troponina I	27
3.6. Cálculo amostral	28
3.7. Análise estatística	28
4. RESULTADOS	29
4.1. Pacientes estudados	30
4.2. Características basais	30
4.3. Concentrações de troponina nos grupos DAC e controle.....	32
4.4. BNP e variáveis de estresse oxidativo	34
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÕES	42
7. REFERÊNCIAS	44

LISTAS

ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE	acidente vascular encefálico
BNP	peptídeo natriurético tipo B
CKMB	creatinofosfoquinase fração MB
CPK	creatinofosfoquinase
DAC	doença arterial coronária
DHL	desidrogenase lática.
DM	diabetes mellitus
DP	desvio-padrão
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HbA1C	hemoglobina glicada
HDL	lipoproteína de alta densidade
IQR	intervalo interquartil
IM	infarto do miocárdio
IMC	índice de massa corpórea
InCor	Instituto do Coração
LDL	lipoproteína de baixa densidade

TABELAS

Tabela 1 - Elevação de troponina na ausência de isquemia aguda.....	9
Tabela 2 - Características clínicas e laboratoriais.....	31
Tabela 3 - Regressão logística, multivariada para presença de DAC.....	33
Tabela 4 - BNP e variáveis de estresse oxidativo.....	34

FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo com evolução dos marcadores de infarto do miocárdio	3
Figura 2 - Complexo de troponinas e tropomiosina	5
Figura 3 - Eventos após alta com relação à concentração de Troponina T	7
Figura 4 - Elevação de troponinas no consenso de 2012	11
Figura 5 - Curvas de liberação de troponinas após infarto agudo e estresse miocárdico sem evidência de necrose	15
Figura 6 - Concentração de troponina I nos pacientes diabéticos com e sem DAC	32
Figura 7 - Sensibilidade e especificidade da troponina na DAC.....	33

RESUMO

Segre CAW. *Sobre a elevação persistente de troponina em pacientes diabéticos, portadores de doença coronária obstrutiva estável* [tese]. São Paulo; Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2015.

Introdução: A determinação de troponinas I e T é considerado o padrão ouro para diagnóstico do infarto agudo do miocárdio. Novos métodos foram desenvolvidos possibilitando a determinação de troponinas em concentrações mínimas no plasma atualmente, abaixo de picogramas/mL. A pesquisa com estes novos marcadores mostrou concentrações detectáveis na população geral e também em pacientes com diferentes doenças associadas. Tem-se demonstrado correlação entre a elevação destes marcadores e mortalidade cardíaca e não cardíaca. Diabetes mellitus e doença arterial coronária são preditores conhecidos da elevação de troponinas. Não se sabe se há diferença entre as concentrações de troponinas em pacientes diabéticos com e sem doença arterial coronária. **Objetivo:** Quantificar as concentrações de troponinas em dois subgrupos de pacientes diabéticos: um grupo com doença arterial coronária e um segundo grupo controle - sem doença arterial coronária e comparar os resultados destes grupos. **Métodos:** Concentrações de troponinas foram determinadas em pacientes diabéticos: com e sem doença arterial coronária. Os pacientes foram pareados por idade e índice de massa corpórea. Ambos os grupos de pacientes tinham função ventricular avaliada como normal, pela ventriculografia no cateterismo ou por ecocardiografia transtorácica. Pacientes com fibrilação atrial e hipertrofia ventricular foram excluídos. As concentrações de BNP, nitrotirosina, mieloperoxidase e LDL oxidado também foram determinadas em ambos os grupos. **Resultados:** 95 pacientes participaram do estudo: 50 pacientes com doença arterial coronária (idade média=63,3 a, 58% masc) e 45 pacientes com artérias coronárias angiograficamente normais (idade média=61,4 a, 39,5% masc). As Concentrações de troponina foram significativamente mais elevadas em pacientes diabéticos com doença arterial coronária em relação aos pacientes do grupo controle (mediana=12,0 pg/mL (IQR=8,0-18,0) vs 7,0 pg/ mL (IQR =5,9-10,0)), respectivamente; $p=0,0001$. Com concentração de troponina maior que 9 pg/mL, a área sob a curva ROC para o diagnóstico de doença arterial coronária foi 0,712 com sensibilidade de 70% e especificidade de 66%. Concentrações plasmáticas de Peptídeo Natriurético Tipo B e variáveis de estresse oxidativo (mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado) não foram diferentes entre os grupos. Análise multivariada para analisar associação com DAC mostrou que gênero ($p=0,04$), glicose sérica ($p=0,03$) e troponina I ($p=0,01$) tiveram significância estatística independente. **Conclusão:** Neste estudo a elevação de troponina correlacionou-se com a presença de doença arterial coronária em pacientes diabéticos, permitindo concluir que as troponinas podem ser usadas como biomarcadores nesta população de alto risco.

Descritores: troponina; diabetes mellitus tipo 2; doença da artéria coronária; peptídeo natriurético encefálico; estresse oxidativo.

ABSTRACT

Segre CAW. *Troponin in diabetic patients with and without chronic coronary artery disease* [thesis]. Sao Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

Background: Cardiac-specific troponin detected with the new high-sensitivity assays can be chronically elevated in response to cardiovascular comorbidities and confer important prognostic information, in the absence of unstable coronary syndromes. Both diabetes mellitus and coronary artery disease are known predictors of troponin elevation. It is not known whether diabetic patients with coronary artery disease have different levels of troponin compared with diabetic patients with normal coronary arteries. To investigate this question, we determined the concentrations of troponin in two groups of diabetic patients: those with multivessel coronary artery disease and those with angiographically normal coronary arteries. **Methods:** We studied 95 diabetic patients and compared hsTnI in serum samples from 50 patients with coronary artery disease (mean age=63.7, 58% male) with 45 controls with angiographically normal coronary arteries. Brain natriuretic peptide and the oxidative stress biomarkers myeloperoxidase, nitrotyrosine, and oxidized LDL were also determined. **Results:** Diabetic patients with coronary artery disease had higher levels of troponin than did controls (median values, 12.0 pg/mL (IQR: 8,0-18,0) vs 7.0 pg/mL (IQR: 5,9-10,0), respectively; $p=0.0001$). The area under the ROC curve for the diagnosis of CAD was 0.712 with a sensitivity of 70% and a specificity of 66%. Plasma BNP levels and oxidative stress variables (myeloperoxidase, nitrotyrosine, and oxidized LDL) were not different between the two groups. In a multivariate analysis, gender ($p=0.04$), serum glucose (0.03) and hsTnI ($p=0.01$) had independent statistical significance. **Conclusion:** High-sensitivity troponin elevation is related to the presence of obstructive coronary artery disease in diabetic patients with multiple associated cardiovascular risk factors. High-sensitivity troponin may serve as a biomarker in this high-risk population.

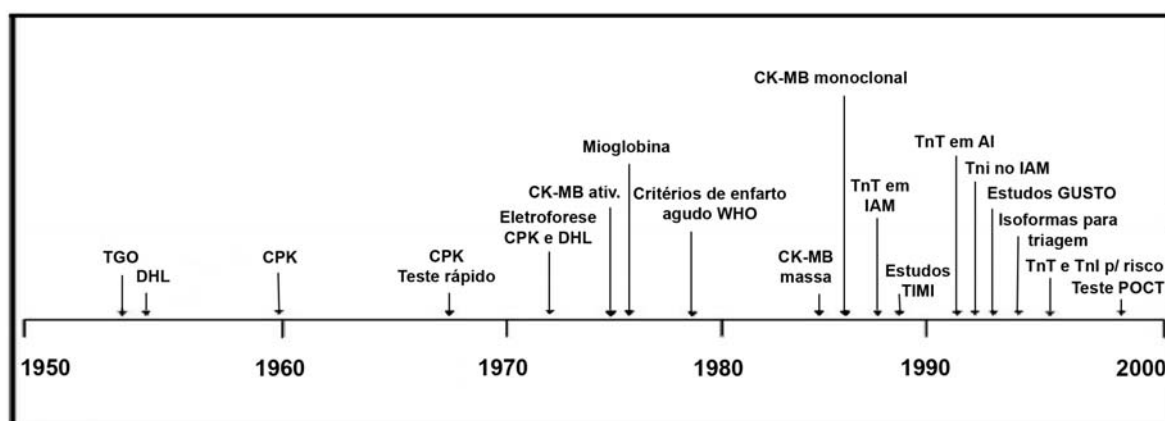
Descriptors: troponin; diabetes mellitus type 2; coronary artery disease; myocardial ischemia; natriuretic peptide, brain; oxidative stress.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 PERSPECTIVA HISTÓRICA

Como se vê na representação temporal da figura 1, a transaminase glutâmico oxalacética (TGO) foi o primeiro marcador de necrose miocárdica descrito em trabalho pioneiro de 1954⁽¹⁾. Em 1956 foi caracterizada a elevação de desidrogenase láctica (DHL) após infarto⁽²⁾. Com isso houve grande impulso na busca por marcadores de infarto do miocárdio. Em 1960 a creatinofosfoquinase (CPK) foi descrita como marcador de lesão em músculo esquelético e miocárdio⁽³⁾. Ao mesmo tempo foram caracterizadas as isoenzimas da DHL⁽⁴⁾. Durante a década de 60 avanços técnicos permitiram o desenvolvimento de teste rápido e reprodutível para determinação quantitativa de CPK⁽⁵⁾. Posteriormente foi descrita a elevação da fração específica de CPK do músculo cardíaco: creatinofosfoquinase fração MB (CKMB)⁽⁶⁾ que, em seguida, teve seu papel determinado, no diagnóstico do infarto agudo⁽⁷⁾. A partir de 1980 começaram os testes com trombolíticos no infarto agudo, sendo que as técnicas de eletroforese que eram utilizadas até então demoravam de 2 a 3h para serem realizadas e se tornaram demasiadamente lentas diante da possibilidade de tratamento imediato do infarto⁽⁸⁾. Nesse momento foram desenvolvidas as técnicas específicas para a determinação quantitativa de CKMB através de anticorpo monoclonal altamente sensível, posteriormente chamada CKMB-massa⁽⁹⁾. Com este avanço houve grande ganho de sensibilidade e demonstrou-se de modo definitivo que a musculatura esquelética contém pequenas quantidades (1-3%) de CKMB⁽¹⁰⁾. Portanto, lesão na musculatura esquelética, por exemplo, após cirurgia⁽¹¹⁾, trauma⁽¹²⁾ ou corrida⁽¹³⁾, pode cursar com concentrações detectáveis de CKMB na circulação.



Modificado de: What-when-how (diagnostics of ischemic heart disease) Part 1. [Citado em 2015 agosto 04]. Disponível em: <http://what-when-how.com/novel-strategies-in-ischemic-heart-disease/cardiac-biomarkers-diagnostics-of-ischemic-heart-disease-part-1/>.

Figura 1 - Linha do tempo com evolução dos marcadores de infarto do miocárdio

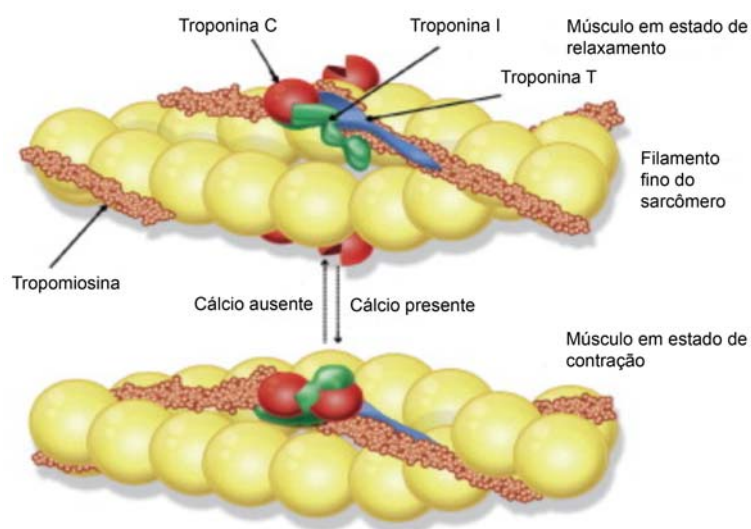
Quando se tornou evidente a falta de especificidade da CKMB-massa, a pesquisa se voltou para as proteínas do sarcômero – mais abundantes e mais específicas. Em primeiro lugar as cadeias leves de miosina que se demonstraram idênticas às do musculo esquelético e por este motivo foram abandonadas como marcador de infarto⁽¹⁴⁾. Posteriormente iniciou-se a pesquisa com as troponinas: a troponina I foi descrita pela primeira vez como marcador específico de infarto do miocárdio em 1987⁽¹⁵⁾. Em 1989 foram desenvolvidos anticorpos inicialmente para a troponina T⁽¹⁶⁾ e em 1992 para a troponina I. A troponina T foi liberada para uso como marcador no infarto agudo em 1995 e a troponina I em 1996⁽¹⁷⁾.

1.2 TROPONINAS E A FISIOLOGIA DA CONTRAÇÃO MUSCULAR

As troponinas são um complexo de proteínas que regulam a contração do músculo estriado através do controle da interação entre actina e miosina mediada pelo cálcio. Os filamentos de actina são formados por uma dupla fita, cada uma com peso molecular de 42 kilodaltons. O mecanismo de contração muscular não é perfeitamente conhecido. De acordo com o principal modelo proposto, ocorrem deslocamentos nanométricos dos filamentos de actina em relação aos de miosina através da interação das cabeças de miosina com sítios de ligação nos filamentos de actina. O controle sobre a contração muscular se dá pela inibição ativa deste deslocamento e a proteína cuja função é a inibição tônica deste processo é a tropomiosina (representada em rosa na figura 2). Ela fica enrolada em espiral em volta de todo o filamento de actina e tem 70 kilodaltons de peso molecular. Presos à tropomiosina em intervalos regulares, de 2,7 nanômetros, que coincidem com os sítios ativos de ligação da actina às cabeças de miosina, temos o complexo de troponinas. Acredita-se que este complexo fixe a tropomiosina aos filamentos de actina e tenha importante função no controle da contração muscular⁽¹⁸⁾.

Sabe-se que o filamento de actina, na presença de ATP e magnésio, liga-se fortemente ao de miosina. Mas se o complexo de troponinas-tropomiosina for acrescentado, esta ligação é inibida. O complexo de troponinas consiste de três subunidades: Troponina C, de 18 kilodaltons que, conforme o modelo proposto, liga-se ao cálcio; Troponina I, de 23 kilodaltons, cuja ligação à actina inibe as interações actina-miosina; Troponina T, de 35 kilodaltons que se liga à tropomiosina, portanto liga o complexo de troponinas ao filamento de actina. Em repouso, acredita-se que os sítios ativos de ligação de actina com as cabeças de miosina sejam cobertos ou

inibidos pelo complexo tropomiosina-troponina. Com a entrada de grandes quantidades de cálcio, o mecanismo de inibição da contração é inativado. Supõe-se que isto se dê da seguinte maneira: os íons cálcio se ligam à troponina C e o complexo muda de conformação e empurra a tropomiosina para um sulco entre os dois filamentos de actina. Este movimento libera os sítios de ligação de actina que passam a atrair as cabeças de miosina, permitindo a contração muscular, representada na figura 2⁽¹⁸⁻²⁰⁾. A sequência de aminoácidos da troponina C é a mesma do músculo estriado; já a das troponinas I e T é específica do músculo cardíaco⁽²¹⁾.



Modificado de: Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(3):169-76.

Figura 2 - Complexo de Troponinas e Tropomiosina

1.3 CONSOLIDAÇÃO DAS TROPONINAS COMO MARCADORES DE INFARTO

Quando da descoberta das troponinas como marcadores, os ensaios de CKMB-massa para diagnóstico de infarto tinham, a tal ponto, consolidada sua aplicação, que o primeiro trabalho com Troponina T foi recusado pelas revistas “Circulation” e “Clinical Chemistry” porque as isoenzimas de CKMB eram considerados o marcador perfeito e deveriam permanecer como o padrão para diagnóstico de infarto do miocárdio⁽¹⁴⁾.

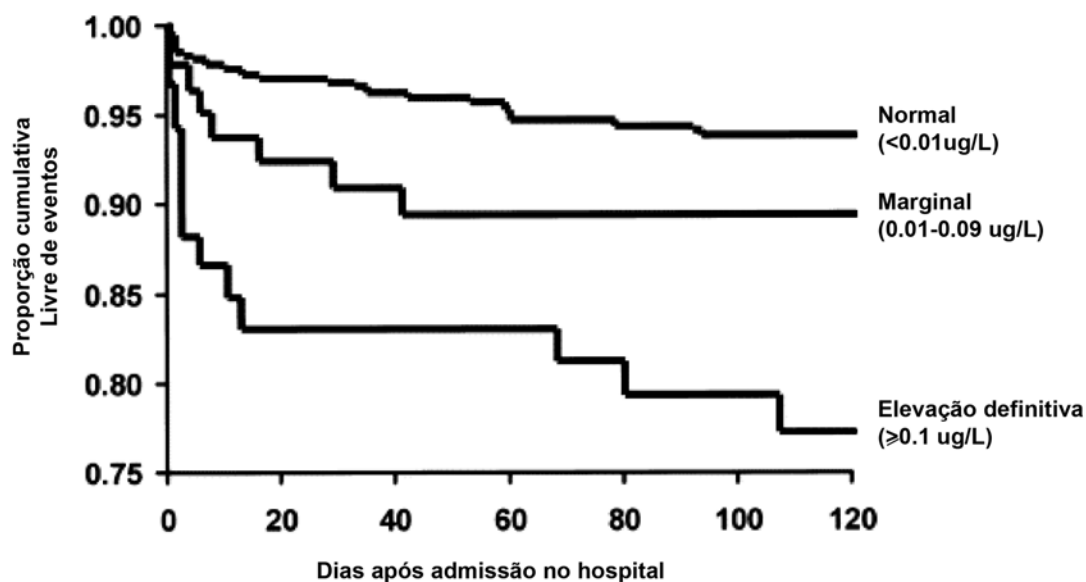
Sabe-se que nos anos seguintes as troponinas consolidaram-se como o principal marcador de infarto do miocárdio. Isso ocorreu por diferentes motivos: em primeiro lugar as troponinas são realmente marcadores específicos do coração, ao contrário da CKMB, que está presente em pequena quantidade na musculatura esquelética. Foi comprovado que os primeiros “kits” de troponina mantinham a especificidade para acometimento cardíaco, em pacientes com doença muscular aguda ou crônica, em diálise e após maratona⁽²²⁾. No ano 2000, diversas evidências apontavam para as troponinas como o marcador de maior sensibilidade e especificidade para lesão cardíaca⁽²³⁾.

Em segundo lugar, sabe-se que a meia vida da troponina e CKMB são semelhantes, assim como são semelhantes o pico inicial e o decréscimo após o pico, só que a troponina mantém-se detectável dias após o retorno da concentração de CKMB ao nível basal. A liberação contínua de troponina, sete a dez dias após o evento, torna possível o diagnóstico por um período maior. Deste modo, há aumento da sensibilidade em relação à CKMB^(24,25). Após o ano 2000, demonstrou-se a grande

sensibilidade da troponina, também nas primeiras 2 horas pós-infarto e com isso a determinação de troponina substituiu a dosagem de mioglobina⁽²⁶⁾.

Em terceiro lugar, comprovou-se que as troponinas elevam-se na angina instável, em situações nas quais a CKMB é normal, sendo que esta elevação tem importância para diagnóstico e correlação com prognóstico^(24,27-31). Mínimas elevações de troponina em pacientes de baixo risco, com dor torácica e eletrocardiograma normal demonstraram-se associadas com diagnóstico de doença coronária pela cineangiocoronariografia e com prognóstico no acompanhamento em um ano⁽³²⁾. Resultados semelhantes ocorreram com elevações mínimas ou marginais de troponina na emergência⁽³³⁾. Deste modo consolidou-se o valor diagnóstico de pequenas elevações de troponina, que passaram a ser chamados de microinfartos⁽²¹⁾.

A figura 3 ilustra a relação entre elevações marginais de troponina e eventos.



Modificado de Henrikson CA, Howell EE, Bush DE, Miles JS, Meininger GR, Friedlander T, et al. Prognostic usefulness of marginal troponin T elevation. *Am J Cardiol.* 2004;93(3):275-9

Figura 3 - Eventos após alta com relação à concentração de Troponina T

As evidências da importância dos microinfartos tornaram-se a base para a redefinição de infarto do miocárdio no ano 2000⁽³¹⁾ na qual a elevação de troponinas passa a ser o centro da definição de infarto do miocárdio:

“Elevação típica e descida gradual (troponinas) ou elevação e queda mais rápida (CK-MB) dos biomarcadores de necrose miocárdica, associadas com, pelo menos, com uma das situações seguintes:

Sintomas isquêmicos;

Desenvolvimento de uma onda Q patológica no ECG;

Alterações do ECG sugestivas de isquemia do miocárdio (elevação ou depressão do segmento ST);

Intervenção nas artérias coronárias (angioplastia coronária);

Exame de imagem com evidência de nova perda de miocárdio viável ou nova anormalidade de contração segmentar de parede.”

Com a publicação do consenso e o uso mais disseminado das troponinas para diagnóstico de infarto, principalmente a partir do ano 2000, tornou-se evidente que, apesar da grande especificidade, estes marcadores elevam-se em diferentes situações clínicas, tais como: pericardite⁽³⁴⁾, miocardite⁽³⁵⁾, embolia pulmonar⁽³⁶⁾, sepse⁽³⁷⁾, insuficiência cardíaca congestiva⁽³⁸⁾ e taquicardia⁽³⁹⁾. Foram descritas também elevações após exercício físico extenuante⁽⁴⁰⁾, após AVE⁽⁴¹⁾. A elevação na insuficiência renal crônica era bem descrita desde as primeiras publicações com troponinas⁽⁴²⁾.

No consenso de 2007, a definição de infarto foi, em linhas gerais, mantida,⁽⁴³⁾. Porém, neste momento, a elevação de troponinas em diversas situações

já era fato conhecido e passou a receber ênfase no diagnóstico diferencial⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾. Na Tabela 1, são listadas condições associadas à elevação de troponina na ausência de isquemia.

Tabela 1 - Elevação de troponina na ausência de isquemia

ESTRESSE MIOCÁRDICO AGUDO

Tromboembolismo pulmonar, dissecção aguda de aorta, exercício físico de grande intensidade (maratona), arritmia complexa, síndrome de Takotsubo, acidente vascular cerebral, hemorragia subaracnóide, sangramento gastrointestinal, rbdomiólise.

TRAUMA

Trauma torácico fechado, pós-cirurgia cardíaca ou biópsia endomiocárdica, pós-angioplastia, pós-ressuscitação, pós-cardioversão elétrica.

QUADROS INFLAMATÓRIOS

Miocardite, pericardite, endocardite, vasculopatia do transplante.

QUADROS SISTÊMICOS GRAVES

Sepse, grandes queimados, púrpura trombocitopênica trombótica.

INSUFICIÊNCIA CARDÍACA AGUDA E CRÔNICA

Valvopatias agudas e crônicas, quadros infiltrativos cardíacos: amiloidose, hemocromatose.

HIPERTENSÃO ARTERIAL COM HIPERTROFIA VENTRICULAR

Outras situações associadas a hipertrofia: miocardiopatia hipertrófica, estenose aórtica.

CARDIOTOXICIDADE

Envenenamento por mordida de cobra ou picada de aranha e escorpião, intoxicação por monóxido de carbono, toxicidade por quimioterapia (adriamicina, 5-fluorouracil).

DOENÇAS CRÔNICAS

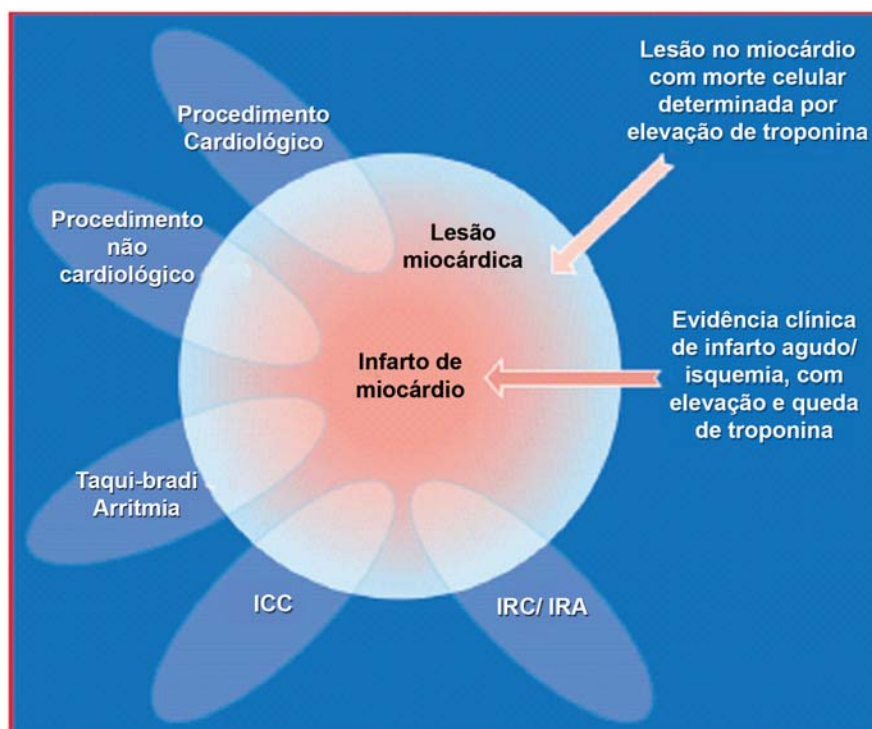
Diabetes mellitus, hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, lupus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide.

1.4 TROPONINAS ULTRA-SENSÍVEIS

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade para diagnóstico nas primeiras horas após um quadro isquêmico agudo do miocárdio, novas técnicas para detecção de troponinas foram desenvolvidas permitindo a identificação de concentrações mínimas de troponinas no plasma. Estes novos métodos receberam o nome de troponinas de alta sensibilidade ou ultra-sensíveis e resultaram em maior sensibilidade para diagnóstico de infarto⁽⁴⁷⁾. Os primeiros “kits” destas troponinas começaram a ser comercializados em 2004⁽⁴⁸⁾. As proteínas detectadas com estas novas técnicas são as mesmas utilizadas para diagnóstico desde a sua descrição inicial, mas foram feitos diferentes aperfeiçoamentos na técnica de eletroquimioluminescência^(49,50). Com estes avanços, as troponinas são determinadas com alta precisão, mesmo em concentrações cada vez mais baixas, da ordem de nanogramas por mililitro, com os ensaios mais sensíveis disponíveis atualmente^(51,52).

O grande aumento na sensibilidade dos testes ocorreu à custa de diminuição de especificidade, inclusive nas síndromes coronárias agudas. Com as novas metodologias desenvolvidas, as elevações crônicas de troponinas se tornaram a tal ponto comuns que, utilizando-se a título de ilustração o exemplo do último consenso de infarto do miocárdio, publicado em 2012, a elevação de marcadores deixa de ser o centro do diagnóstico (como era no consenso anterior): “o clínico deve fazer diagnóstico de isquemia primária, problemas de oferta/demanda de oxigênio ou pós-cirurgia cardíaca, angioplastia, etc.” Na figura 4, reproduzimos ilustração do consenso de 2012, que ilustra bem a dificuldade de diagnóstico: “se a elevação de troponina deve-se à lesão no miocárdio associada a procedimento cardíaco ou não cardíaco, taqui ou bradi-arritmia, insuficiência cardíaca congestiva ou insuficiência

renal. Entretanto, estas situações podem também estar associadas com infarto do miocárdio...” O próprio texto do consenso faz a seguinte ressalva: “a complexidade das circunstâncias clínicas pode, algumas vezes, tornar difícil determinar onde os casos individuais se encontram nos ovais da figura”⁽⁵³⁾. Em resumo, o problema principal passa a ser a elevação de troponinas em pacientes com DAC estável e outras doenças crônicas que são atendidos em pronto-socorro com sintomas inespecíficos de dispnéia ou dor torácica.



Modificado de: Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2012;126(16):2020-35.

Figura 4 - Elevação de Troponinas no consenso de 2012

1.5 TROPONINAS COMO MARCADORES DE RISCO NA POPULAÇÃO GERAL

Em 2006 já havia documentação consistente com relação à elevação de troponinas em diferentes situações clínicas sem associação com isquemia ou infarto. A partir deste conhecimento foi publicado artigo pioneiro, utilizando a troponina como marcador para rastreamento na população geral. A prevalência de TnT detectável foi de 0,7%. A proposta demonstrou-se válida e houve correlação da elevação de TnT com insuficiência cardíaca, hipertrofia ventricular, diabetes mellitus e doença renal crônica⁽⁵⁴⁾.

Mantendo o objetivo de utilizar as troponinas para rastreamento na população, o mesmo grupo de autores repetiu a análise nas mesmas amostras congeladas, desta vez com “kit” de troponina T ultra-sensível de 2010. Com isso demonstrou-se que a prevalência de concentrações detectáveis aumentou de 0,7% para 25%. Além disso, os indivíduos com troponinas detectáveis tinham alterações cardíacas estruturais: aumento da espessura de parede e disfunção ventricular, e documentou-se a correlação entre concentrações detectáveis de TnT e mortalidade geral⁽⁵⁵⁾. Os principais achados deste trabalho, quais sejam: grande porcentagem de indivíduos com troponina detectável e correlação das concentrações de troponinas com: variáveis clínicas, alterações anatômicas, e diferentes indicadores de prognóstico, tornaram-se comuns mediante a aplicação das novas troponinas em pesquisa na população geral.

O critério utilizado para analisar as concentrações de troponinas na população geral é diferente daquele utilizado para diagnóstico de infarto, ou seja, concentrações acima do percentil 99% de uma população saudável⁽⁴⁴⁾. Considera-se troponina

detectável qualquer elevação acima do limiar de detecção e abaixo do percentil 99%⁽⁵⁶⁾, sendo que os testes mais sensíveis disponíveis atualmente chegam a ter mais de 95% de detecção na população geral⁽⁵⁷⁾.

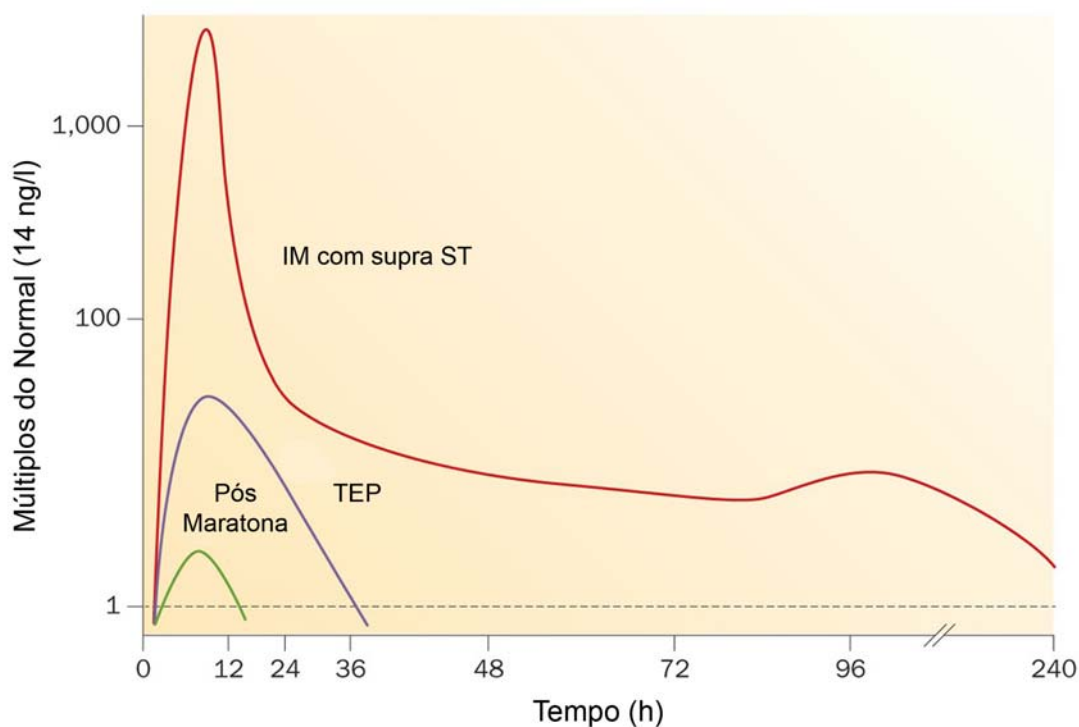
A pesquisa com troponinas detectáveis na população demonstrou que concentrações elevadas de troponinas têm correlação com: mortalidade geral^(55,58-62), incidência de insuficiência cardíaca^(58,61,63,64), doença arterial coronária⁽⁶¹⁾, eventos cardíacos maiores⁽⁶⁴⁾ e mortalidade cardiovascular^(55,59,61,63,65).

Os achados se mantêm, mesmo com pequenas elevações de troponina, pouco acima do limiar de detecção^(66,67). Devido a estas correlações, as novas troponinas vêm se mostrando marcadores úteis de risco na população e podem vir a ser usadas para rastreamento na população geral⁽⁶⁵⁾ e também em diferentes subgrupos^(56,63,68,69).

A fisiopatologia da elevação de troponinas em indivíduos normais ainda não está bem esclarecida. Pela grande prevalência de elevação na população geral, supõe-se que, na maioria dos casos, a causa não seja necrose miocárdica. Entre diversas possibilidades descritas⁽⁷⁰⁾, considera-se que troponinas podem ser liberadas na circulação, na ausência de necrose, através de três mecanismos principais: 1. extravasamento de troponinas de um “pool” citoplasmático, que pode estar associado à distensão da parede do miocárdio⁽⁷¹⁻⁷³⁾ com aumento de permeabilidade de membrana; 2. liberação de fragmentos pequenos de troponinas após proteólise⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾; 3. apoptose: neste caso, a ativação de caspases pode mediar a clivagem de proteínas estruturais e consequente liberação de troponinas⁽⁷⁷⁾. São descritos ainda mecanismos alternativos que poderiam explicar a liberação de troponinas na ausência de necrose: existe uma taxa de cerca de 1% ao ano de regeneração de cardiomiócitos em indivíduos jovens, mas esta taxa, por ser muito baixa e cair com o envelhecimento,

difícilmente justifica a elevação de troponinas na circulação. Em hepatócitos e também em cultura de células miocárdicas formam-se vesículas ou “blebs” que se desprendem da membrana celular sem necrose, mas não há evidência de que este mecanismo ocorra em células miocárdicas humanas⁽⁷⁰⁾.

Com relação ao extravasamento do “pool” citoplasmático, a presença de troponinas livres no citoplasma foi descrita pela primeira vez em 1991, pelo mesmo grupo que descreveu a troponina T para diagnóstico de infarto⁽⁷⁸⁾. As troponinas T e I existiriam numa forma livre no citoplasma: não complexadas com a tropomiosina ou com a troponina C, estas troponinas livres correspondem a 3-8% do total de troponinas do cardiomiócito^(22,72,73,79). Evidências experimentais indicam que com lesão ou estresse dos cardiomiócitos, estas troponinas citoplasmáticas poderiam ser liberadas numa forma intacta em resposta ao estiramento do músculo cardíaco. Considera-se, também, que esta liberação possa ser mediada por proteínas transmembrana chamadas integrinas⁽⁷¹⁾. Portanto, as troponinas são marcadores específicos para o tecido cardíaco, mas não para necrose miocárdica⁽⁸⁰⁾. Como representado na figura 5, a presença de troponinas livres no citoplasma justificaria o pico inicial no padrão bifásico da liberação de troponinas do infarto, sendo que a curva tardia de liberação ocorre por degradação inflamatória das troponinas complexadas à tropomiosina⁽⁷⁰⁾.



Modificado de: Giannitsis E, Katus H A. Cardiac troponin level elevations not related to acute coronary syndromes. *Nat Rev Cardiol.* 2013; 10(11): 623-34.

Figura 5 - Curvas de liberação de troponinas após infarto agudo e estresse miocárdico sem evidência de necrose

Também na figura 5, são representados os exemplos mais clínicos mais comuns nos quais se considera haver liberação de troponinas do citoplasma, sem evidência de necrose miocárdica, que são: a embolia pulmonar⁽⁸¹⁾ e após maratona⁽⁸²⁾. Nestes casos, a curva de liberação corresponde à do pico inicial do infarto, que pode ser devida à liberação do “pool” citoplasmático. Visando à demonstração, de modo mais específico e controlado, da elevação de troponinas na ausência de necrose miocárdica, publicação recente utilizou-se de taquicardia induzida por marcapasso atrial, imediatamente antes de cineangiocoronariografia e mostrou elevação de troponinas, tanto nos pacientes com, como nos sem DAC⁽⁸³⁾.

Outra linha de evidências considera que haja liberação de fragmentos de troponinas por proteólise ou apoptose que se iniciaria por uma via comum mediada por uma protease dependente de cálcio, a calpaína. Segundo um dos modelos propostos: 1. ocorre uma sobrecarga de cálcio, seja por aumento na distensão do miocárdio⁽⁸⁴⁾ ou por isquemia⁽⁷⁵⁾; 2. a protease calpaína é ativada e faz proteólise de TnI⁽⁷⁵⁾ e de TnT⁽⁸⁵⁾; 3. fragmentos pequenos de troponina podem, então, ser liberados na circulação^(70,74); 4. a calpaína pode interagir com a caspase-3, protease mediadora de apoptose⁽⁸⁶⁾; 5. a inibição de caspase-3 após infarto experimental diminui a proteólise de troponina I⁽⁸⁷⁾. A proteólise de troponinas pode fazer parte de uma resposta de modulação da contratilidade do miocárdio em situação de estresse^(85,88,89).

1.6 DOENÇA CORONÁRIA CRÔNICA E TROPONINAS

Sabe-se que pacientes com DAC têm concentrações de troponinas significativamente mais elevadas em relação aos pacientes sem DAC^(56,83). A carga de aterosclerose avaliada pelo número de artérias acometidas na angiotomografia de coronárias⁽⁹⁰⁾ ou pelo “syntax score” na cineangiocoronariografia⁽⁹¹⁾ correlacionou-se com elevação nas concentrações de TnT.

As implicações prognósticas da elevação de troponinas em pacientes com DAC também são conhecidas. Concentrações elevadas de troponinas têm correlação com: mortalidade cardiovascular^(56,92), evolução para insuficiência cardíaca^(56,92), infarto do miocárdio⁽⁹²⁾ e mortalidade geral⁽⁹³⁾. Além disso, o uso combinado da elevação de TnT com tomografia de coronárias mostrou correlação com desfecho combinado de infarto e morte cardíaca em pacientes com risco intermediário, sendo

que os pacientes com grande carga de placa e elevação de TnT tiveram a maior taxa de eventos⁽⁹⁴⁾.

Entre as diversas hipóteses aventadas para a liberação crônica de troponinas, em pacientes com DAC, consideramos mais relevantes, aquelas que associam a elevação de troponinas com eventos isquêmicos de pequena magnitude. Sabe-se que episódios silenciosos de isquemia, diagnosticados por alterações eletrocardiográficas em monitorização contínua em terapia intensiva, são associados com elevação de TnT⁽⁹⁵⁾. TnI determinada antes e após cintilografia de perfusão miocárdica associada ao teste de esforço correlacionou-se com a magnitude de isquemia transitória determinada⁽⁹⁶⁾. Outros trabalhos com TnT não demonstraram elevação relacionada à isquemia transitória em teste de esforço^(97,98). O conjunto dos achados, porém, reforça a idéia de que a isquemia silenciosa ou subclínica possa induzir à liberação de troponinas.

A fisiopatologia dos episódios de isquemia silenciosa pode estar relacionada à ruptura de uma placa instável seguida da oclusão de pequenos vasos⁽⁹⁹⁾ ou à microembolização de placas de ateroma⁽¹⁰⁰⁾, situação na qual, após ruptura ou erosão de uma placa instável, restos de placas de ateroma e plaquetas ativadas são carregados pela circulação, embolizando e ocluindo a microcirculação⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾. Placas não obstrutivas também podem estar associadas à embolização⁽¹⁰⁴⁾.

Pela dificuldade técnica de caracterizar a microcirculação utilizando-se métodos de imagem, as evidências relativas à microembolização são indiretas. Sabe-se, por exemplo, que em pacientes com angina estável, submetidos à angiotomografia de coronárias, há correlação de elevação de TnT com placas não calcificadas e remodeladas. A ruptura crônica e silenciosa destas placas não

calcificadas e subsequente microembolização são consideradas causa potencial da elevação de troponina⁽¹⁰⁴⁾. Resultados semelhantes foram encontrados por tomografia de coerência óptica associada com determinação de TnI antes da realização de angioplastia⁽¹⁰⁵⁾. Novas técnicas de ressonância magnética permitem melhor caracterização do interstício do miocárdio, o chamado volume extracelular. O aumento de volume extracelular está relacionado a edema ou alterações intersticiais difusas que, por sua vez, podem estar relacionadas à microembolização de placas. Pesquisa realizada em nossa instituição mostrou correlação de TnI com volume extracelular determinado por ressonância magnética, em pacientes com DAC⁽¹⁰⁶⁾.

Portanto, a liberação de troponinas em pacientes com DAC pode estar relacionada a embolia e/ou oclusão de pequenos vasos. Porém, outros mecanismos foram descritos para explicar a liberação de troponinas na DAC: na isquemia experimental seguida de reperfusão, foi descrito padrão de liberação de troponinas semelhante ao observado na liberação do “pool” citoplasmático^(107,108). É descrito, com base em evidências experimentais, modelo em que a isquemia induz ativação de caspases que clivam troponinas cujos fragmentos são liberados na circulação. De fato, fragmentos de troponinas foram detectados na circulação após infarto do miocárdio⁽¹⁰⁹⁾.

Extensa linha de evidências associa o desenvolvimento de aterosclerose ao estresse oxidativo^(110,111). Os marcadores de estresse oxidativo podem ser enzimas associadas à produção de radicais livres como a mieloperoxidase e moléculas que sofrem ação do estresse oxidativo, como a nitrotirosina e o LDL oxidado⁽¹¹²⁾. A mieloperoxidase está associada com presença de DAC⁽¹¹³⁾ e, em pacientes com DAC estabelecida, demonstrou-se associação de concentrações elevadas de

mieloperoxidase com mortalidade geral e cardiovascular^(114,115). As concentrações de nitrotirosina⁽¹¹⁶⁾ e de LDL oxidado^(117,118) também se associam à presença de DAC.

Outros marcadores foram investigados com relação a DAC. Existem evidências que correlacionam concentrações de BNP e DAC em pacientes com função ventricular normal⁽¹¹⁹⁾ e que correlacionam BNP com isquemia em prova isquêmica⁽¹²⁰⁾.

1.7 DIABETES MELLITUS E TROPONINAS

Além do aumento de risco de DAC^(121,122), sabe-se que o diabetes é uma doença microvascular e pode causar disfunção endotelial e aumento do risco de trombose, independentemente da aterosclerose em artérias epicárdicas⁽¹²³⁾.

Considera-se que a fisiopatologia do desenvolvimento das complicações micro e macrovasculares seja semelhante⁽¹²³⁾, de acordo com o principal modelo proposto⁽¹²⁴⁾; a hiperglicemia gera excessiva oferta de substratos para a cadeia respiratória. A sobrecarga de substratos gera um excesso de elétrons que acabam reduzindo parcialmente o oxigênio da cadeia respiratória, produzindo radicais livres de oxigênio e ativando as quatro vias clássicas pelas quais a hiperglicemia gera as lesões do diabetes⁽¹²⁵⁾, quais sejam: 1. via dos polióis: nas células, o excesso de glicose é metabolizado a sorbitol (poliol) pela aldose-reductase e aumenta a suscetibilidade ao estresse oxidativo⁽¹²⁶⁾; 2. via das hexoses: o excesso de frutose-6-fostato desvia o fluxo para esta via que modifica fatores de transcrição e a expressão gênica, podendo aumentar a expressão de PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)⁽¹²⁷⁾ e provocar efeitos pró-trombóticos; 3. via da proteína quinase C: a

hiperglicemia aumenta a síntese de diacilglicerol que leva à ativação da proteína quinase C, cujos efeitos pró-trombótico e pró-inflamatório provocam vasoconstrição e diminuem atividade da óxido nítrico sintase, causando disfunção endotelial⁽¹²⁸⁾; 4. produtos avançados de glicosilação, formados pela reação não enzimática de precursores derivados de proteínas intra e extra-celulares, unem-se a um receptor específico que é expresso como parte da imunidade inata e cuja ativação provoca lesão vascular⁽¹²⁹⁾. Pela importância do estresse oxidativo na fisiopatologia do diabetes, correlaciona-se também lesão em cardiomiócitos com aumento de estresse oxidativo e hiperglicemia associados ao DM^(130,131).

Há uma linha de evidências que relaciona DM ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca, independentemente da coexistência de HAS e DAC. O mecanismo proposto com base em dados experimentais é da apoptose de tecido cardíaco associada à hiperglicemia e ao estresse oxidativo^(132,133). Para esta situação é utilizado o termo cardiomiopatia diabética, referindo-se ao desenvolvimento de disfunção ventricular que ocorre independentemente de quaisquer doenças associadas^(134,135).

De modo consistente com as alterações descritas, desde a primeira publicação com troponinas na população geral, sabe-se que o DM é um determinante de elevação de troponinas⁽⁵⁴⁾. Com os ensaios mais modernos, a TnT chega a ser detectável em 90% de diabéticos na população geral⁽¹³⁶⁾ e demonstrou-se correlação entre concentração de hemoglobina glicada e concentração de troponinas⁽¹³⁷⁾. A elevação de TnT em pacientes diabéticos correlacionou-se com eventos cardiovasculares maiores^(69,138). Já a elevação de TnI correlacionou-se com infarto do miocárdio, eventos cardíacos maiores, insuficiência cardíaca e mortalidade

cardiovascular⁽¹³⁹⁾. Em diabéticos com doença arterial coronária estabelecida, a elevação de TnT correlacionou-se com eventos cardiovasculares maiores⁽¹⁴⁰⁾. Não há dados consistentes com relação às concentrações de troponinas em pacientes diabéticos sem DAC documentada.

Em pacientes diabéticos, elevação de BNP correlacionou-se com disfunção ventricular sistólica e diastólica⁽¹⁴¹⁾ e isquemia silenciosa⁽¹⁴²⁾; correlacionou-se também com mortalidade⁽¹⁴³⁾ e eventos cardiovasculares maiores em 3 anos⁽¹⁴⁴⁾. Há evidências de que o BNP possa ser associado à troponina para determinação de risco em pacientes diabéticos⁽¹³⁸⁾.

Portanto, diabetes mellitus e DAC são preditores conhecidos de elevação de troponinas. Não se sabe se pacientes diabéticos com DAC apresentam concentrações de troponinas diferentes dos diabéticos sem DAC. Para investigar esta questão, foram determinadas as concentrações de troponinas em dois grupos de pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados: o primeiro com DAC de padrão de acometimento multiarterial e outro com artérias angiograficamente normais. Concentrações de BNP, nitrotirosina, mieloperoxidase e LDL oxidado também foram analisadas em subgrupos dos dois grupos.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Investigar as concentrações de troponinas em pacientes com DM tipo 2, com e sem DAC. Relacionar estes dados com concentrações de BNP, variáveis metabólicas e de estresse oxidativo.

3 MÉTODO

3 MÉTODO

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo caso-controle, que incluiu pacientes portadores de Doença Arterial Coronariana, pertencentes do banco de dados do projeto de pesquisa MASS - “The Medicine, Angioplasty, or Surgery Study Trial” do Instituto do Coração – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor – HCFMUSP).

3.2 RECRUTAMENTO DOS PACIENTES

Os pacientes com diabetes mellitus tipo 2 foram selecionados do ambulatório de doença arterial coronária do Instituto do Coração (InCor) - Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina da USP. Os pacientes encaminhados ao ambulatório para avaliação de dor torácica foram divididos em dois grupos: aqueles com cineangiocoronariografia demonstrando DAC multiarterial, com lesões ateroscleróticas causando mais de 50% de redução luminal, compuseram o grupo DAC e os pacientes com artérias angiograficamente normais por cinenangiocoronariografia ou angiotomografia de coronárias (sem lesões obstrutivas e com escore de cálcio de zero) compuseram o grupo sem DAC (ou controle). Ambos os grupos eram formados por pacientes estáveis, sem sintomas limitantes ou internação recente. Os pacientes foram pareados por idade, gênero e índice de massa corpórea. Todos os pacientes tinham função ventricular avaliada como normal, pela ventriculografia no cateterismo ou por ecocardiografia transtorácica. Os critérios

para não inclusão foram: disfunção ventricular esquerda, fibrilação atrial, tabagismo atual, insuficiência renal (níveis plasmáticos de creatinina duas vezes acima do valor de referência), hipertensão grave (baseado no critério do “Joint National Committee VI” acima de 180 x 110 mm Hg), insuficiência ou disfunção hepática (níveis plasmáticos de TGO, TGP, fosfatase alcalina ou Gama GT acima do valor de referência), cirurgia recente, hipotireoidismo ou doença musculoesquelética degenerativa. Todos os pacientes foram orientados a suspender, por um mês, o uso de estatinas. Este estudo foi aprovado pela comissão científica do Instituto do Coração – HCFMUSP, sob o número 946/94/56, pela comissão de ética para análise de projetos de pesquisa sob o número 264/94/11. Este projeto teve financiamento FAPESP – número 10/52025-9. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os termos da declaração de Helsinque.

3.3 DIAGNÓSTICO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2

Os critérios utilizados para o diagnóstico de DM tipo 2 foram aqueles utilizados pela Sociedade Brasileira de Diabetes ⁽³⁴⁾.

3.4 ANÁLISE LABORATORIAL

Glicemia, colesterol total e triglicérides foram determinados em amostras séricas após 12 horas de jejum, utilizando-se “kits” específicos no equipamento automático Dimension RxL (Siemens Healthcare, Newark, USA). O colesterol HDL foi mensurado utilizando-se método colorimétrico enzimático homogêneo para o equipamento Dimension RxL. O colesterol LDL foi estimado pela fórmula de

Friedewald. A hemoglobina glicada foi determinada por método imunoturbidimétrico específico para o equipamento automático RxL. Os outros marcadores utilizados tiveram suas concentrações determinadas pelos seguintes ensaios: BNP (Advia Centauro, Siemens Medical Solutions); Nitrotirosina (solid-phase enzyme linked immunosorbent assays - Hycult, Uden, Holanda); Mieloperoxidase (solid-phase enzyme linked immunosorbent assays - Hycult, Uden, Holanda); LDL oxidado (competitive enzyme-linked immunosorbent assay Mercodia, Uppsala, Suécia).

3.5 DETERMINAÇÃO DA TROPONINA I

A Troponina I foi determinada utilizando-se o “kit” ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) no equipamento automático do mesmo fabricante. O teste é um imunoensaio que utiliza tecnologia de quimioluminescência e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. De acordo com o fabricante, o limite de detecção é de 6 pg/ mL. O valor de referência para a população no percentil 99% é menor do que 40 pg/ mL e neste percentil o coeficiente de variação é de menos de 10%.

O “kit” ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra não é considerado como ultra-sensível. A nomenclatura mais utilizada é troponina contemporânea ou nível 1. A classificação dos novos ensaios de troponinas tem por base a porcentagem de indivíduos na população normal que tem troponina detectável: o nível 1 corresponde a menos de 50% de detecção, o nível 2: 50-75%, o nível 3: 75-95% e o nível 4: acima de 95% de detecção. A partir do nível 2, o ensaio é considerado ultra-sensível⁽⁵⁷⁾. Para este

trabalho, visando a fluência na leitura, optamos por usar o nome mais genérico troponina e não troponina contemporânea.

3.6 CÁLCULO AMOSTRAL

O cálculo amostral foi feito com base nos resultados de um estudo piloto, com uma pequena amostra inicial de pacientes que mostrou diferença entre as médias de 4 pg/ mL e desvio padrão de aproximadamente 7 pg/mL. Com base nesta amostra, o número de pacientes necessário em cada grupo foi de 49 (poder 0,8 e alfa 0,05).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando-se o software MedCalc (versão 12). Mediana e intervalos interquartis foram usados para mostrar valores de troponinas e peptídeo natriurético. Variáveis categóricas foram apresentadas como valores absolutos e relativos (%). O valor de p bicaudal de menos de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. As características clínicas e laboratoriais dos pacientes foram examinadas nos grupos DAC e controle. As variáveis qualitativas foram testadas em relação a sua distribuição pelo método de Kolmogorov-Smirnov. O teste T de Student foi aplicado para variáveis contínuas e o chi-quadrado ou teste exato de Fischer para variáveis categóricas. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para variáveis não paramétricas. Análise multivariada foi realizada utilizando-se regressão logística. No modelo foram incluídas variáveis com $p < 0,2$ na análise univariada.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 PACIENTES ESTUDADOS

Entre janeiro de 2011 e março de 2012, 95 pacientes diabéticos foram incluídos no estudo: 50 pacientes com doença arterial coronária e os outros 45 pacientes, o grupo controle, com artérias angiograficamente normais.

4.2 CARACTERÍSTICAS BASAIS

As principais características clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo são mostradas na **Tabela 2**. Os pacientes com DAC têm maiores concentrações de colesterol total e colesterol LDL; já a glicemia sérica tem concentrações mais elevadas (mas sem diferença estatisticamente significativa) no grupo controle.

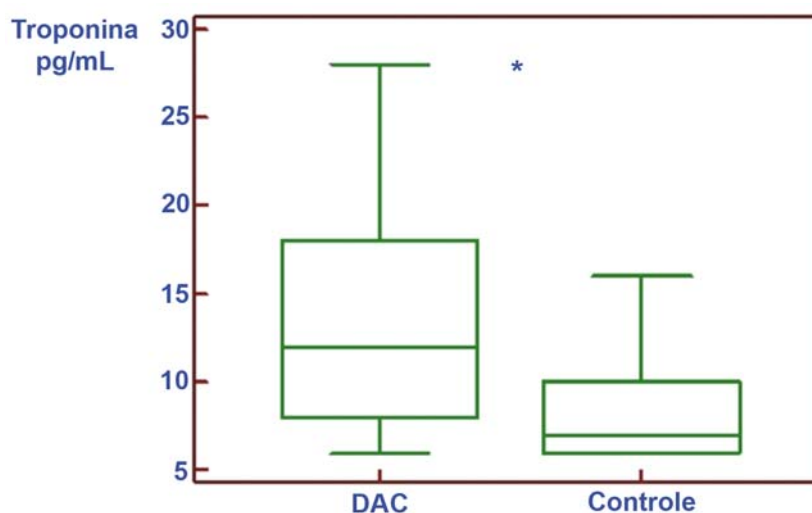
Tabela 2 - Características Clínicas e Laboratoriais

Característica*	DAC (n=50)	Controles (n=45)	P
Idade, média \pm DP, a	63,3 \pm 8,3	61,4 \pm 9,4	0,34
Feminino n (%)	20 (42)	26 (60,5)	0,07
Hipertensão n(%)	40 (83)	36 (84)	0,42
Cintura, média \pm DP (cm)	103 \pm 13	108 \pm 17	0,09
IMC, média \pm DP, Kg/m ²	30,6 \pm 6,3	32,4 \pm 6,7	0,22
Colesterol Total (mg/ dL)	216 \pm 45	193 \pm 33	0,01
Colesterol LDL (mg/dL)	142 \pm 41	124 \pm 31	0,03
Colesterol HDL (mg/dL)	37 \pm 8	39 \pm 8	0,47
Triglicérides (mg/dL)	173 \pm 75	163 \pm 70	0,55
Glicose sérica (mg/dL)	124 \pm 37	134 \pm 32	0,18
Hemoglobina A1C(mg/dL)	7,2 \pm 1,8	7,3 \pm 1,6	0,61
Uso de insulina n (%)	12 (25)	11 (26)	0,43
Tempo de diabetes, anos	9,9 \pm 9,7	7,07 \pm 6,9	0,16

*DAC indica doença arterial coronária, IMC indica índice de massa corpórea, LDL colesterol indica lipoproteína de baixa densidade, HDL colesterol indica lipoproteína de alta densidade, Hemoglobina A1C indica hemoglobina glicada.

4.3 CONCENTRAÇÕES DE TROPONINA NOS GRUPOS DAC E CONTROLE

As troponinas tiveram concentrações detectáveis em 55% dos pacientes com DAC e em 40% dos pacientes sem DAC, sendo que, em média, 47,5% dos pacientes tiveram troponinas detectáveis. Como mostrado na **figura 6**, pacientes diabéticos com DAC têm maiores concentrações de troponina em relação aos controles, respectivamente, medianas: 12,0 pg/mL (IQR: 8,0-18,0 pg/mL) versus 7,0 pg/mL (IQR: 5,9-10,0 pg/mL); $p=0,0001$. A área sob a curva ROC para o diagnóstico de DAC, mostrada na **figura 7** foi de 0,712, sendo que a concentração de troponina acima de 9,0 pg/mL conferiu sensibilidade de 70% e especificidade de 66%. Na análise multivariada realizada para avaliação de variáveis associadas a DAC e mostrada na **tabela 3**, sexo masculino ($p=0,04$) e troponina I ($p=0,01$) tiveram significância estatística independente. A glicose sérica ($p=0,03$) teve significância estatística independente com coeficiente de correlação negativo.



Caixas (boxplot) representam os percentis 25 a 75%. Linhas dentro das caixas representam os valores de mediana. As barras representam os percentis 2,5% e 97,5%. DAC indica grupo de pacientes com doença arterial coronária, Controle indica grupo controle (sem doença arterial coronária). * $P=0,0001$

Figura 6 - Concentrações de Troponina I nos pacientes diabéticos com e sem DAC

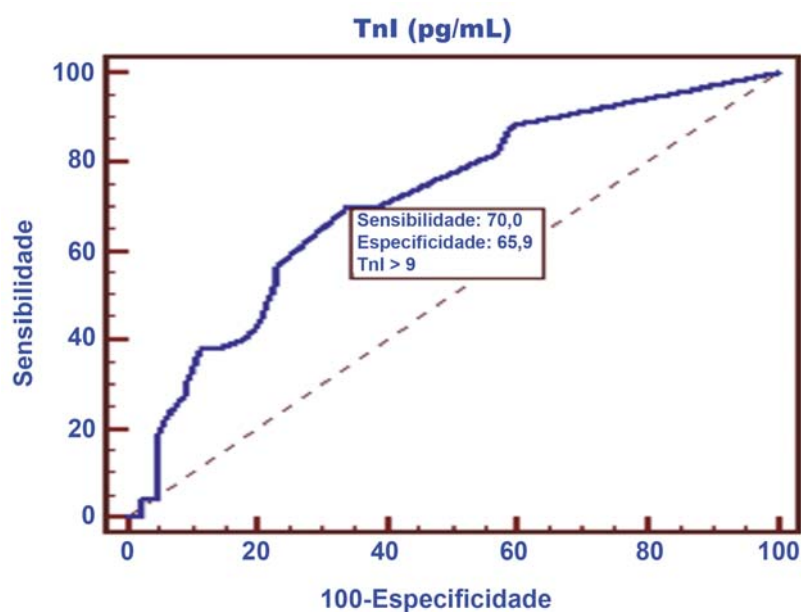


Figura 7 - Sensibilidade e especificidade da troponina na DAC

Tabela 3 - Regressão Logística multivariada para presença de DAC. Equação de Regressão

Variáveis independentes	Coefficiente	Desvio padrão	Γ_{parcial}	t	P
(Constante)	-0,04849				
Troponina I	0,02919	0,01135	0,3359	2,572	0,013
Gênero	0,2735	0,1304	0,2794	2,098	0,0408
Glicose	-0,003659	0,00173	-0,2815	-2,115	0,0392
Colesterol Total	0,004189	0,002269	0,248	1,846	0,0706
LDL colesterol	-0,00007268	0,002797	-0,003604	-0,026	0,9794
HAS	0,1209	0,1964	0,09459	0,616	0,5414
Tempo de diabetes	0,0106	0,008039	0,1799	1,319	0,193
BNP	-0,001938	0,002445	-0,1092	-0,792	0,4317
LDL Oxidado	-0,0003638	0,01383	-0,003649	-0,0263	0,9791
IMC	-0,003274	0,001245	-0,00829	0,056	0,876
Cintura	-0,002267	0,003964	-0,07906	-0,572	0,5699

4.4 BNP E VARIÁVEIS DE ESTRESSE OXIDATIVO

As concentrações de BNP e variáveis de estresse oxidativo (mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado) são mostradas na **tabela 4**. As concentrações não foram significativamente diferentes entre os dois grupos.

Tabela 4 - BNP e variáveis de estresse oxidativo

Variável	DAC	Controles	P
BNP (n=78), mediana (IQR), pg/mL	37,0 (25,3-59,3)	28,0(10,0-43,0)	0,08
Nitrotirosina (n=68), mediana (IQR), nm/mL	27,9 (23,5-31,5)	28,7 (23,0-35,5)	0,77
Mieloperoxidase (n=68), mediana (IQR), ng/mL	33,0 (20,5-54,8)	27,0 (21,0-50,0)	0,96
LDL Oxidado (n=71), mediana (IQR), mU/L	14,8 (11,0-18,7)	11,2 (9,6-15,7)	0,09

*BNP indica peptídeo natriurético tipo B, LDL Oxidado indica lipoproteína de baixa densidade na forma oxidada.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O principal resultado encontrado, no presente estudo, foram concentrações significativamente mais elevadas ($p=0,0001$) nos pacientes diabéticos com doença arterial coronária em relação aos diabéticos sem doença coronária. O achado é compatível com outros estudos que também mostraram elevação de troponinas em pacientes com doença arterial coronária crônica estável^(56,90,104,145). Estes estudos, porém, não foram concebidos para testar esta hipótese em pacientes diabéticos. A contribuição específica deste trabalho é a de ter confirmado a correlação da elevação de troponinas com DAC em pacientes diabéticos, com múltiplos fatores de risco associados, demonstrando que a troponina é um marcador útil na população de diabéticos. Esta não é uma conclusão imediata, porque há evidências de que o diabetes mellitus, por si só, sem complicações ou outras doenças associadas, está correlacionado com elevação de troponinas^(69,136).

Na amostra estudada, as concentrações de colesterol total e colesterol LDL foram mais elevadas nos pacientes com DAC, confirmando um achado bem estabelecido em diferentes populações⁽¹⁴⁶⁾. Os resultados da análise multivariada e da curva ROC para diagnóstico de DAC confirmaram a associação entre elevação de TnI e presença de DAC. A análise multivariada mostrou, também, correlação de gênero e glicemia (com coeficiente negativo) com a presença de DAC em pacientes diabéticos. Com relação a gênero, sexo masculino é fator de risco conhecido para DAC⁽¹⁴⁷⁾ e a correlação confirmada neste estudo era esperada. Hiperglicemia é fator de risco conhecido para DAC⁽¹⁴⁸⁾. O achado inesperado da correlação negativa entre a glicose sérica e DAC é provavelmente vinculado a um viés da amostra estudada, na

qual o grupo sem DAC tinha um controle glicêmico pior em relação ao grupo com DAC, mas sem significância estatística na análise univariada.

Dois estudos avaliaram as concentrações de troponina em relação às características basais dos pacientes, inclusive DAC. O primeiro deles com TnT mostrou correlação das concentrações de troponinas com idade, gênero e função renal, mas não com a presença de DAC. Neste estudo, porém, o número de pacientes com doença coronária era relativamente pequeno ⁽¹³⁶⁾. O segundo estudo realizado com TnI encontrou maior porcentagem de pacientes com DAC no grupo de troponina elevada em relação ao de troponina normal. Este estudo teve maior número de pacientes e maior prevalência de DAC em relação ao primeiro ⁽¹³⁹⁾. Nenhum dos estudos acima foi especificamente concebido para comparar concentrações de troponinas em diabéticos com e sem DAC. Em ambos a determinação de troponinas foi realizada após o término do estudo, em análise post-hoc.

Não se sabe se as diferenças na correlação entre troponinas e DAC devem-se a características específicas das populações estudadas ou se há diferenças qualitativas entre as troponinas I e T para correlação com DAC. Achados de metanálise sugerem que a geração de troponinas anterior tinha desempenho comparável para diagnóstico e prognóstico, na maioria das situações clínicas ⁽¹⁴⁹⁾.

As troponinas I e T de última geração parecem ter desempenho diferente conforme sua aplicação clínica: estudo com grande número de pacientes, comparando ambas as troponinas, demonstrou que a correlação entre elas foi apenas moderada. A troponina I, e não a troponina T, teve associação significativa e independente, tanto com história prévia, como com a incidência subsequente de infarto do miocárdio ⁽⁹²⁾. Em diabéticos, a correlação com infarto e doença coronária

também parece ser melhor com a troponina I⁽¹³⁹⁾ em relação à Troponina T^(69,138). De modo semelhante, com relação à isquemia transitória em teste de esforço, a troponina I⁽⁹⁶⁾, e não a troponina T⁽⁹⁷⁾, correlacionou-se com isquemia detectada. No presente estudo, também utilizamos troponina I que, novamente, mostrou boa correlação com a presença de DAC em pacientes diabéticos. Estudos com maior número de pacientes, comparando os dois tipos de troponinas, serão necessários para determinar qual a que melhor se correlaciona com a presença de DAC. Até este momento, as evidências apontam para o uso da TnI com este propósito.

A média de troponinas detectáveis de 47,5% está acima do esperado em relação a outros estudos que também utilizaram a classe de troponinas contemporâneas para análise e cujos resultados mostraram médias de 25% ou menos^(64,65). É possível que esta diferença se deva à especificidade da população estudada em relação à população geral: trata-se de população de diabéticos com múltiplos fatores de risco associados, encaminhados após triagem para ambulatório especializado. Ainda que acima do esperado, a média de detecção encontrada é compatível com o “kit” de troponina I utilizado⁽⁵⁷⁾.

Desde que este trabalho foi iniciado, novos “kits” super-sensíveis foram lançados que determinam concentrações detectáveis em mais de 90% dos indivíduos na população geral⁽⁶⁴⁾. Ainda que, em relação aos ensaios mais modernos, o “kit” de troponina I utilizado tenha sensibilidade relativamente baixa, a porcentagem de troponinas detectáveis foi alta: 40% dos diabéticos sem DAC e 55% dos diabéticos com DAC, e permitiu discriminação entre os dois grupos, com diferenças significativas entre os resultados. Não há muita informação com relação ao poder discriminativo das diferentes classes de troponinas. Um único estudo, que comparou

três diferentes classes de troponinas, mostrou que as troponinas ultra-sensíveis não trouxeram diferenças significativas para a previsão de risco de eventos cardiovasculares futuros em relação às troponinas contemporâneas, à exceção do risco de insuficiência cardíaca⁽⁶⁴⁾.

No presente estudo, considerando-se a prevalência de TnI detectável e o valor prognóstico da elevação de troponinas em diabéticos^(69,139), pode-se dizer que 40% dos diabéticos têm algum tipo de lesão no miocárdio, não aparente clinicamente, cuja fisiopatologia ainda é desconhecida. Sabe-se que a disfunção microvascular se associa com elevação de troponinas em pacientes com insuficiência cardíaca⁽¹⁵⁰⁾ e que o DM cursa com disfunção microvascular associada à hiperglicemia⁽¹²³⁾. A hiperglicemia crônica avaliada pela hemoglobina glicada associa-se com elevação de TnI⁽¹³⁷⁾ em análise post-hoc com grande número de pacientes. Esta correlação não foi encontrada no presente estudo, provavelmente pelo pequeno número de pacientes. Ainda assim, a hiperglicemia crônica causando disfunção microvascular e elevação de troponinas é um mecanismo plausível que pode justificar a elevação de troponinas em diabéticos sem doença coronária.

O achado de concentrações de TnI elevadas nos pacientes diabéticos com DAC em relação aos sem DAC (cujas concentrações foram baixas e próximas ao limite de detecção do método) sugere que a liberação de troponinas esteja relacionada à aterosclerose em artérias epicárdicas e não a nenhum outro tipo de dano microvascular causado pelo diabetes e nem à cardiomiopatia diabética. Como se sabe, a aterosclerose coronariana, mesmo na ausência de obstrução crítica⁽⁶⁶⁾, pode cursar com elevação de troponinas através de microembolização e dano à microcirculação⁽¹⁵¹⁾.

Apesar da associação bem determinada entre marcadores de estresse oxidativo e doença arterial coronária⁽¹¹²⁾, neste estudo não houve diferença significativa nas concentrações de mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado, entre os pacientes diabéticos com e sem DAC. A presença de diabetes, sem outras co-morbidades, associa-se a elevados níveis de estresse oxidativo⁽¹⁵²⁾ com altas concentrações de mieloperoxidase⁽¹⁵³⁾ e LDL oxidado⁽¹⁵⁴⁾. É possível que a elevação nos níveis de estresse oxidativo associada ao diabetes mellitus seja de tal magnitude, que não haja diferença detectável pela presença associada de DAC. Outro possível viés é a variação intrínseca dos marcadores de estresse oxidativo^(155,156). Além disso, é possível que o número de pacientes não tenha sido suficiente para que se encontrassem diferenças entre os grupos. Não foi encontrada, também, diferença significativa nas concentrações de BNP entre os diabéticos com e sem DAC. Porém, a acurácia do BNP para diagnóstico de isquemia é apenas moderada⁽¹⁵⁷⁾ e o número de pacientes pode não ter sido insuficiente.

Com relação às aplicações clínicas dos resultados encontrados é possível que a elevação crônica de troponinas possa vir a ter um papel como marcador em prevenção primária: no rastreamento de alterações cardíacas estruturais ou doenças associadas. Utilizando-se, por exemplo, TnT ultra sensível, mais de 90% dos pacientes com insuficiência cardíaca⁽¹⁵⁸⁾ e acima de 95% dos pacientes com doença arterial coronária⁽⁵⁶⁾ têm concentrações detectáveis. Foi avaliado também o risco em determinações seriadas de troponina: nos indivíduos com TnT inicialmente detectável, o aumento de mais de 50% da concentração, numa segunda medida realizada após 2 a 3 anos, associou-se com aumento no risco de insuficiência cardíaca e morte de causa cardiovascular, enquanto a queda nas concentrações

associou-se à diminuição do risco⁽⁶³⁾. As troponinas vêm sendo consideradas como marcadores superiores à proteína C reativa e ao BNP para rastreamento de alterações cardíacas estruturais e doença coronária na população geral^(17,61,159).

As troponinas têm também potencial utilidade como marcadores na prevenção secundária. Sabe-se que, em estudos com grande número de pacientes, elevações de troponinas foram relacionadas a alterações cardíacas estruturais e mesmo na ausência de doença aguda, têm associação com mortalidade geral^(55,59), incidência de insuficiência cardíaca e mortalidade cardiovascular^(61,63). Estas correlações também foram demonstradas em pacientes com DAC^(56,92,93). Publicação recente em diabéticos com DAC demonstrou correlação da elevação de TnT com eventos cardiovasculares maiores e aumento de risco nos pacientes com mais 25% de elevação em avaliações subsequentes. Nestes pacientes foi investigado o potencial efeito da revascularização do miocárdio e não houve benefício com relação à diminuição na concentração de TnT⁽¹⁴⁰⁾.

Com relação a perspectivas futuras, é importante que se identifique e se esclareça a fisiopatologia e a dinâmica de liberação de troponinas e também a presença de fragmentos ou modificações na isquemia aguda e crônica e nas diferentes doenças associadas. Só desta maneira pode-se investigar, de modo consistente, diferentes intervenções (revascularização do miocárdio, uso de medicações específicas) e possível efeito sobre a concentração seriada de troponinas e correlação com risco a longo prazo.

O presente estudo contribui para as evidências acima, ao demonstrar que a troponina I é um marcador útil de doença coronária em pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

A elevação de troponina correlacionou-se com a presença de doença arterial coronária em pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados. A troponina é um biomarcador útil nesta população de alto risco.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Karmen A, Wroblewski F, Ladue JS. Transaminase activity in human blood. *J Clin Invest.* 1955;34(1):126-31.
2. Wroblewski F, Rueggsegger P, Ladue JS. Serum lactic dehydrogenase activity in acute transmural myocardial infarction. *Science.* 1956;123(3208):1122-3.
3. Dreyfus JC, Schapira G, Demos J. [Study of serum creatine kinase in myopathic patients and their families]. *Rev Fr Etud Clin Biol.* 1960;5:384-6.
4. Vasudevan G, Mercer DW, Varat MA. Lactic dehydrogenase isoenzyme determination in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation.* 1978;57(6):1055-7.
5. Hess JW, MacDonald RP, Natho GJ, Murdock KJ. Serum creatine phosphokinase: evaluation of a commercial spectrophotometric method. *Clin Chem.* 1967;13(11):994-1005.
6. Roe CR, Limbird LE, Wagner GS, Nerenberg ST. Combined isoenzyme analysis in the diagnosis of myocardial injury: application of electrophoretic methods for the detection and quantitation of the creatine phosphokinase MB isoenzyme. *J Lab Clin Med.* 1972;80(4):577-90.
7. Wagner GS, Roe CR, Limbird LE, Rosati RA, Wallace AG. The importance of identification of the myocardial-specific isoenzyme of creatine phosphokinase (MB form) in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation.* 1973;47(2):263-9.
8. Ladenson JH. Troponin I, the story. *Clin Chem.* 2010;56(3):482-3.

9. Landt Y, Vaidya HC, Porter SE, Whalen K, McClellan A, Amyx C, et al. Semi-automated direct colorimetric measurement of creatine kinase isoenzyme MB activity after extraction from serum by use of a CK-MB-specific monoclonal antibody. *Clin Chem.* 1988;34(3):575-81.
10. Tsung JS, Tsung SS. Creatine kinase isoenzymes in extracts of various human skeletal muscles. *Clin Chem.* 1986;32(8):1568-70.
11. Tsung SH. Circulating CK-MB and CK-BB isoenzyme after gastrointestinal surgery. *J Clin Pathol.* 1982;35(2):200-3.
12. Schwartz JG, Prihoda TJ, Stuckey JH, Gage CL, Darnell ML. Creatine kinase MB in cases of skeletal muscle trauma. *Clin Chem.* 1988;34(5):898-901.
13. Jaffe AS, Garfinkel BT, Ritter CS, Sobel BE. Plasma MB creatine kinase after vigorous exercise in professional athletes. *Am J Cardiol.* 1984;53(6):856-8.
14. Rosalki SB, Roberts R, Katus HA, Giannitsis E, Ladenson JH, Apple FS. Cardiac biomarkers for detection of myocardial infarction: perspectives from past to present. *Clin Chem.* 2004;50(11):2205-13.
15. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 1987;113(6):1333-44.
16. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kubler W. Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol.* 1989;21(12):1349-53.
17. Apple FS. High-sensitivity cardiac troponin for screening large populations of healthy people: is there risk? *Clin Chem.* 2011;57(4):537-9.

18. Hall JE, Guyton AC. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 12th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2011.
19. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(3):169-76.
20. Parmacek MS, Solaro RJ. Biology of the troponin complex in cardiac myocytes. *Progr Cardiovasc Dis*. 2004;47(3):159-76.
21. Antman EM. Decision making with cardiac troponin tests. *N Engl J Med*. 2002;346(26):2079-82.
22. Adams JE 3rd, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*. 1993;88(1):101-6.
23. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, et al. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation*. 2000;102(11):1216-20.
24. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, Scheffold T, Diederich KW, Vinar G, et al. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation*. 1991;83(3):902-12.
25. Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA, Abendschein DR, Geltman EM, Ladenson JH. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1996;42(11):1770-6.
26. Eggers KM, Oldgren J, Nordenskjold A, Lindahl B. Diagnostic value of serial measurement of cardiac markers in patients with chest pain: limited value of adding myoglobin to troponin I for exclusion of myocardial infarction. *Am Heart J*. 2004;148(4):574-81.

27. Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jorgensen P, Peheim E, Ljungdahl L, et al. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med*. 1992;327(3):146-50.
28. Galvani M, Ottani F, Ferrini D, Ladenson JH, Destro A, Baccos D, et al. Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation*. 1997;95(8):2053-9.
29. Stubbs P, Collinson P, Moseley D, Greenwood T, Noble M. Prognostic significance of admission troponin T concentrations in patients with myocardial infarction. *Circulation*. 1996;94(6):1291-7.
30. Gerhardt W, Nordin G, Ljungdahl L. Can troponin T replace CK MBmass as "gold standard" for acute myocardial infarction ("AMI")? *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1999;230:83-9.
31. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* .2000;36(3):970-1062.
32. deFilippi CR, Tocchi M, Parmar RJ, Rosanio S, Abreo G, Potter MA, et al. Cardiac troponin T in chest pain unit patients without ischemic electrocardiographic changes: angiographic correlates and long-term clinical outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(7):1827-34.
33. Henrikson CA, Howell EE, Bush DE, Miles JS, Meininger GR, Friedlander T, et al. Prognostic usefulness of marginal troponin T elevation. *The American journal of cardiology*. 2004;93(3):275-9.

34. Bonnefoy E, Godon P, Kirkorian G, Fatemi M, Chevalier P, Touboul P. Serum cardiac troponin I and ST-segment elevation in patients with acute pericarditis. *Eur Heart J*. 2000;21(10):832-6.
35. Lauer B, Niederau C, Kuhl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(5):1354-9.
36. Meyer T, Binder L, Hruska N, Luthe H, Buchwald AB. Cardiac troponin I elevation in acute pulmonary embolism is associated with right ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(5):1632-6.
37. Ammann P, Fehr T, Minder EI, Gunter C, Bertel O. Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. *Intensive Care Med*. 2001;27(6): 965-9.
38. Missov E, Calzolari C, Pau B. Circulating cardiac troponin I in severe congestive heart failure. *Circulation*. 1997;96(9):2953-8.
39. Zellweger MJ, Schaer BA, Cron TA, Pfisterer ME, Osswald S. Elevated troponin levels in absence of coronary artery disease after supraventricular tachycardia. *Swiss Med Wkly*. 2003;133(31-32):439-41.
40. Neumayr G, Gaenzer H, Pfister R, Sturm W, Schwarzacher SP, Eibl G, et al. Plasma levels of cardiac troponin I after prolonged strenuous endurance exercise. *The Am J Cardiol*. 2001;87(3):369-71, A10.
41. James P, Ellis CJ, Whitlock RM, McNeil AR, Henley J, Anderson NE. Relation between troponin T concentration and mortality in patients presenting with an acute stroke: observational study. *BMJ*. 2000;320(7248):1502-4.
42. Frankel WL, Herold DA, Ziegler TW, Fitzgerald RL. Cardiac troponin T is elevated in asymptomatic patients with chronic renal failure. *Am J Clin Pathol*. 1996;106(1):118-23.

-
43. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHFTRoMI, Jaffe AS, Apple FS, et al. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2007;116(22):2634-53.
44. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(1):1-11.
45. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. *Clin Chem*. 2009;55(12):2098-112.
46. Agzew Y. Elevated serum cardiac troponin in non-acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*. 2009;32(1):15-20.
47. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med*. 2009;361(9):858-67.
48. Panteghini M, Pagani F, Yeo KT, Apple FS, Christenson RH, Dati F, et al. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. *Clin Chem*. 2004;50(2):327-32.
49. Apple FS, Collinson PO, Biomarkers ITFoCAoC. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012;58(1):54-61.
50. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin Chem*. 2010;56(2):254-61
51. Morrow DA, Antman EM. Evaluation of high-sensitivity assays for cardiac troponin. *Clin Chem*. 2009;55(1):5-8.

-
52. Mahajan VS, Jarolim P. How to interpret elevated cardiac troponin levels. *Circulation*. 2011;124(21):2350-4.
53. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2012;126(16):2020-35.
54. Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, Das SR, Khera A, McGuire DK, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation*. 2006;113(16):1958-65.
55. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA*. 2010;304(22):2503-12.
56. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, Christophi CA, Rice MM, Jablonski KA, et al. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2009;361(26):2538-47.
57. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem*. 2009;55(7):1303-6.
58. Wang TJ, Wollert KC, Larson MG, Coglianese E, McCabe EL, Cheng S, et al. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2012;126(13):1596-604.
59. Eggers KM, Al-Shakarchi J, Berglund L, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L, et al. High-sensitive cardiac troponin T and its relations to cardiovascular risk factors, morbidity, and mortality in elderly men. *Am Heart J*. 2013;166(3):541-8.
60. Oluleye OW, Folsom AR, Nambi V, Lutsey PL, Ballantyne CM, Investigators AS. Troponin T, B-type natriuretic peptide, C-reactive protein, and cause-specific mortality. *Ann Epidemiol*. 2013;23(2):66-73.

-
61. Saunders JT, Nambi V, de Lemos JA, Chambless LE, Virani SS, Boerwinkle E, et al. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 2011;123(13):1367-76.
62. Everett BM, Zeller T, Glynn RJ, Ridker PM, Blankenberg S. High-sensitivity cardiac troponin I and B-type natriuretic Peptide as predictors of vascular events in primary prevention: impact of statin therapy. *Circulation*. 2015;131(21):1851-60.
63. deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, Gottdiener JS, Kop WJ, Zhan M, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. *JAMA*. 2010;304(22):2494-502.
64. Neumann JT, Havulinna AS, Zeller T, Appelbaum S, Kunnas T, Nikkari S, et al. Comparison of three troponins as predictors of future cardiovascular events--prospective results from the FINRISK and BiomaCaRE studies. *PLoS One*. 2014;9(3):e90063.
65. Zeller T, Tunstall-Pedoe H, Saarela O, Ojeda F, Schnabel RB, Tuovinen T, et al. High population prevalence of cardiac troponin I measured by a high-sensitivity assay and cardiovascular risk estimation: the MORGAM Biomarker Project Scottish Cohort. *Eur Heart J*. 2014;35(5):271-81.
66. Tang WH, Wu Y, Nicholls SJ, Brennan DM, Pepoy M, Mann S, et al. Subclinical myocardial necrosis and cardiovascular risk in stable patients undergoing elective cardiac evaluation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(3):634-40.
67. Daniels LB, Laughlin GA, Clopton P, Maisel AS, Barrett-Connor E. Minimally elevated cardiac troponin T and elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in older adults: results from the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(6):450-9.

-
68. Kavsak PA, Xu L, Yusuf S, McQueen MJ. High-sensitivity cardiac troponin I measurement for risk stratification in a stable high-risk population. *Clin Chem.* 2011;57(8):1146-53.
69. Everett BM, Cook NR, Magnone MC, Bobadilla M, Kim E, Rifai N, et al. Sensitive cardiac troponin T assay and the risk of incident cardiovascular disease in women with and without diabetes mellitus: the Women's Health Study. *Circulation.* 2011;123(24):2811-8.
70. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(24):2406-8.
71. Hessel MH, Atsma DE, van der Valk EJ, Bax WH, Schalij MJ, van der Laarse A. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Archiv : Eur Heart J.* 2008;455(6):979-86.
72. Hamm CW, Giannitsis E, Katus HA. Cardiac troponin elevations in patients without acute coronary syndrome. *Circulation.* 2002;106(23):2871-2.
73. Kociol RD, Pang PS, Gheorghiade M, Fonarow GC, O'Connor CM, Felker GM. Troponin elevation in heart failure prevalence, mechanisms, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(14):1071-8.
74. Gao WD, Liu Y, Mellgren R, Marban E. Intrinsic myofilament alterations underlying the decreased contractility of stunned myocardium. A consequence of Ca²⁺-dependent proteolysis? *Circulation Res.* 1996;78(3):455-65.
75. Gao WD, Atar D, Liu Y, Perez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circulation Res.* 1997;80(3):393-9.

-
76. McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanies myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation Res.* 1999;84(1):9-20.
77. Narula J, Haider N, Virmani R, DiSalvo TG, Kolodgie FD, Hajjar RJ, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med.* 1996;335(16):1182-9.
78. 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;67(16):1360-7.
79. Bleier J, Vorderwinkler KP, Falkensammer J, Mair P, Dapunt O, Puschendorf B, et al. Different intracellular compartmentations of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage. *Clin Chem.* 1998;44(9):1912-8.
80. Adams JE, 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation.* 1993;88(2):750-63.
81. Muller-Bardorff M, Weidtmann B, Giannitsis E, Kurowski V, Katus HA. Release kinetics of cardiac troponin T in survivors of confirmed severe pulmonary embolism. *Clin Chem.* 2002;48(4):673-5.
82. Mousavi N, Czarnecki A, Kumar K, Fallah-Rad N, Lytwyn M, Han SY, et al. Relation of biomarkers and cardiac magnetic resonance imaging after marathon running. *Am J Cardiol.* 2009;103(10):1467-72.

-
83. Turer AT, Addo TA, Martin JL, Sabatine MS, Lewis GD, Gerszten RE, et al. Myocardial ischemia induced by rapid atrial pacing causes troponin T release detectable by a highly sensitive assay: insights from a coronary sinus sampling study. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(24):2398-405.
84. Feng J, Schaus BJ, Fallavollita JA, Lee TC, Canty JM, Jr. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation*. 2001;103(16):2035-7.
85. Zhang Z, Biesiadecki BJ, Jin JP. Selective deletion of the NH₂-terminal variable region of cardiac troponin T in ischemia reperfusion by myofibril-associated mu-calpain cleavage. *Biochemistry*. 2006;45(38):11681-94.
86. Ruetten H, Badorff C, Ihling C, Zeiher AM, Dimmeler S. Inhibition of caspase-3 improves contractile recovery of stunned myocardium, independent of apoptosis-inhibitory effects. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(7):2063-70.
87. Chandrashekar Y, Sen S, Anway R, Shuros A, Anand I. Long-term caspase inhibition ameliorates apoptosis, reduces myocardial troponin-I cleavage, protects left ventricular function, and attenuates remodeling in rats with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(2):295-301.
88. Sheng JJ, Jin JP. Gene regulation, alternative splicing, and posttranslational modification of troponin subunits in cardiac development and adaptation: a focused review. *Front Physiol*. 2014;5:165.
89. Zhang Z, Feng HZ, Jin JP. Structure of the NH₂-terminal variable region of cardiac troponin T determines its sensitivity to restrictive cleavage in pathophysiological adaptation. *Arch Biochem Biophys*. 2011;515(1-2):37-45.

-
90. Laufer EM, Mingels AM, Winkens MH, Joosen IA, Schellings MW, Leiner T, et al. The extent of coronary atherosclerosis is associated with increasing circulating levels of high sensitive cardiac troponin T. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(6):1269-75.
91. Yamazaki K, Iijima R, Nakamura M, Sugi K. High-sensitivity cardiac troponin T level is associated with angiographic complexity of coronary artery disease: a cross-sectional study. *Heart Vessels.* 2015;May 12.[Epub ahead of print]
92. Omland T, Pfeffer MA, Solomon SD, de Lemos JA, Rosjo H, Saltyte Benth J, et al. Prognostic value of cardiac troponin I measured with a highly sensitive assay in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(12):1240-9.
93. Giannitsis E, Spanuth E, Horsch A, Kleber ME, Koch W, Grammer TB, et al. High-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in stable coronary artery disease: results from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51(10):2019-28.
94. Gitsioudis G, Schussler A, Nagy E, Maurovich-Horvat P, Buss SJ, Voss A, et al. Combined assessment of high-sensitivity troponin T and noninvasive coronary plaque composition for the prediction of cardiac outcomes. *Radiology.* 2015; 276(1):73-81.
95. Landesberg G, Vesselov Y, Einav S, Goodman S, Sprung CL, Weissman C. Myocardial ischemia, cardiac troponin, and long-term survival of high-cardiac risk critically ill intensive care unit patients. *Crit Care Med.* 2005;33(6):1281-7.
96. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J.* 2009;30(2):162-9.

-
97. Kurz K, Giannitsis E, Zehelein J, Katus HA. Highly sensitive cardiac troponin T values remain constant after brief exercise- or pharmacologic-induced reversible myocardial ischemia. *Clin Chem*. 2008;54(7):1234-8.
98. Roysland R, Kravdal G, Hoiseith AD, Nygard S, Badr P, Hagve TA, et al. Cardiac troponin T levels and exercise stress testing in patients with suspected coronary artery disease: the Akershus Cardiac Examination (ACE) 1 study. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122(12):599-606.
99. Saadeddin SM, Habbab MA. Percutaneous coronary intervention in the context of systemic inflammation: more injury and worse outcome. *Med Sci Monit*. 2003;9(8):RA193-7.
100. Heusch G, Kleinbongard P, Bose D, Levkau B, Haude M, Schulz R, et al. Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside. *Circulation*. 2009;120(18):1822-36.
101. Heusch G, Schulz R, Haude M, Erbel R. Coronary microembolization. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;37(1):23-31.
102. Braunwald E. Coronary plaque erosion: recognition and management. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(3):288-9.
103. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med*. 2013;368(21):2004-13.
104. Korosoglou G, Lehrke S, Mueller D, Hosch W, Kauczor HU, Humpert PM, et al. Determinants of troponin release in patients with stable coronary artery disease: insights from CT angiography characteristics of atherosclerotic plaque. *Heart*. 2011;97(10):823-31.

105. Lee T, Murai T, Yonetsu T, Suzuki A, Hishikari K, Kanaji Y, et al. Relationship between subclinical cardiac troponin I elevation and culprit lesion characteristics assessed by optical coherence tomography in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv.* 2015;8(4).
106. Segre C, Junior ANA, Nomura C, Villa A, Strunz C, Rezende P, et al. High sensitivity cardiac troponin I changes related with mapping in patients with chronic ischaemic heart disease without late enhancement gadolinium by CRM. *J Am Coll Cardiol.* 2015;65(10_S).
107. Remppis A, Scheffold T, Greten J, Haass M, Greten T, Kubler W, et al. Intracellular compartmentation of troponin T: release kinetics after global ischemia and calcium paradox in the isolated perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27(2):793-803.
108. Communal C, Sumandea M, de Tombe P, Narula J, Solaro RJ, Hajjar RJ. Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(9):6252-6.
109. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000;102(11):1221-6.
110. Li H, Horke S, Forstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014;237(1):208-19.
111. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology.* 2006;13(3):129-42.
112. Ho E, Karimi Galoughi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol.* 2013;1:483-91.

113. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* . 2001;286(17):2136-42.
114. Heslop CL, Frohlich JJ, Hill JS. Myeloperoxidase and C-reactive protein have combined utility for long-term prediction of cardiovascular mortality after coronary angiography. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(11):1102-9.
115. Scharnagl H, Kleber ME, Genser B, Kickmaier S, Renner W, Weihrauch G, et al. Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography--the LURIC study. *Int J Cardiol*. 2014;174(1):96-105.
116. Shishehbor MH, Aviles RJ, Brennan ML, Fu X, Goormastic M, Pearce GL, et al. Association of nitrotyrosine levels with cardiovascular disease and modulation by statin therapy. *JAMA*. 2003;289(13):1675-80.
117. Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, et al. Circulating oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler ThrombVasc Biol*. 2000;20(10):2243-7.
118. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(5):844-8.
119. Kim BS, Lee HJ, Shin HS, Yoon JH, Lee HY, Kim BJ, et al. Presence and severity of coronary artery disease and changes in B-type natriuretic peptide levels in patients with a normal systolic function. *Translational research: J Lab Clin Med*. 2006;148(4):188-95.
120. Weber M, Dill T, Arnold R, Rau M, Ekinici O, Muller KD, et al. N-terminal B-type natriuretic peptide predicts extent of coronary artery disease and ischemia in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J*. 2004;148(4):612-20.

-
121. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241(19):2035-8.
122. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782-7.
123. Laakso M. Heart in diabetes: a microvascular disease. *Diabetes care*. 2011;34(Suppl 2):S145-9.
124. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.
125. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-20.
126. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010;107(9):1058-70.
127. Vazzana N, Ranalli P, Cuccurullo C, Davi G. Diabetes mellitus and thrombosis. *Thromb Res*. 2012;129(3):371-7.
128. Makimattila S, Virkamaki A, Groop PH, Cockcroft J, Utriainen T, Fagerudd J, et al. Chronic hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1996;94(6):1276-82.
129. Eckel RH, Wassef M, Chait A, Sobel B, Barrett E, King G, et al. Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease: Writing Group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Circulation*. 2002;105(18):e138-43.
130. Modesti A, Bertolozzi I, Gamberi T, Marchetta M, Lumachi C, Coppo M, et al. Hyperglycemia activates JAK2 signaling pathway in human failing myocytes via angiotensin II-mediated oxidative stress. *Diabetes*. 2005;54(2):394-401.

-
131. Di Carli MF, Janisse J, Grunberger G, Ager J. Role of chronic hyperglycemia in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in diabetes. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(8):1387-93.
132. Warda M, Kim HK, Kim N, Youm JB, Kang SH, Park WS, et al. Simulated hyperglycemia in rat cardiomyocytes: a proteomics approach for improved analysis of cellular alterations. *Proteomics.* 2007;7(15):2570-90.
133. Kobayashi S, Mao K, Zheng H, Wang X, Patterson C, O'Connell TD, et al. Diminished GATA4 protein levels contribute to hyperglycemia-induced cardiomyocyte injury. *J Biol Chem.* 2007;282(30):21945-52.
134. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation.* 2007;115(25):3213-23.
135. Voulgari C, Papadogiannis D, Tentolouris N. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiac myocytes to current diagnosis and management strategies. *Vasc Health Risk Manag.* 2010;6:883-903.
136. Hallen J, Johansen OE, Birkeland KI, Gullestad L, Aakhus S, Endresen K, et al. Determinants and prognostic implications of cardiac troponin T measured by a sensitive assay in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2010;9:52.
137. Rubin J, Matsushita K, Ballantyne CM, Hoogeveen R, Coresh J, Selvin E. Chronic hyperglycemia and subclinical myocardial injury. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(5):484-9.
138. Hillis GS, Welsh P, Chalmers J, Perkovic V, Chow CK, Li Q, et al. The relative and combined ability of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic Peptide to predict cardiovascular events and death in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2014;37(1):295-303.

-
139. Yiu KH, Lau KK, Zhao CT, Chan YH, Chen Y, Zhen Z, et al. Predictive value of high-sensitivity troponin-I for future adverse cardiovascular outcome in stable patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2014;13:63.
140. Everett BM, Brooks MM, Vlachos HE, Chaitman BR, Frye RL, Bhatt DL, et al. Troponin and Cardiac Events in Stable Ischemic Heart Disease and Diabetes. *N Engl J Med.* 2015;373(7):610-20.
141. Epshteyn V, Morrison K, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Mudaliar S, et al. Utility of B-type natriuretic peptide (BNP) as a screen for left ventricular dysfunction in patients with diabetes. *Diabetes Care.* 2003;26(7):2081-7.
142. Rana BS, Davies JI, Band MM, Pringle SD, Morris A, Struthers AD. B-type natriuretic peptide can detect silent myocardial ischaemia in asymptomatic type 2 diabetes. *Heart.* 2006;92(7):916-20.
143. Bhalla MA, Chiang A, Epshteyn VA, Kazanegra R, Bhalla V, Clopton P, et al. Prognostic role of B-type natriuretic peptide levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol.* 2004;44(5):1047-52.
144. Tang WH, Iqbal N, Wu Y, Hazen SL. Usefulness of cardiac biomarker score for risk stratification in stable patients undergoing elective cardiac evaluation across glycemic status. *Am J Cardiol.* 2013;111(4):465-70.
145. Axelsson A, Ruwald MH, Dalsgaard M, Rossing K, Steffensen R, Iversen K. Serial measurements of high-sensitivity cardiac troponin T after exercise stress test in stable coronary artery disease. *Biomarkers.* 2013;18(4):304-9.
146. Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, et al. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation.* 1977;55(5):767-72.

-
147. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999;99(9):1165-72.
148. Ostrander LD, Jr., Lamphiear DE, Carman WJ, Williams GW. Blood glucose and risk of coronary heart disease. *Arteriosclerosis*. 1981;1(1):33-7.
149. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J*. 2010;31(18):2197-204.
150. Takashio S, Yamamuro M, Izumiya Y, Sugiyama S, Kojima S, Yamamoto E, et al. Coronary microvascular dysfunction and diastolic load correlate with cardiac troponin T release measured by a highly sensitive assay in patients with nonischemic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(7):632-40.
151. Brener SJ, Topol EJ. Troponin, embolization and restoration of microvascular integrity. *Eur Heart J*. 2000;21(14):1117-9.
152. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(11):1773-82.
153. Wiersma JJ, Meuwese MC, van Miert JN, Kastelein A, Tijssen JG, Piek JJ, et al. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. *Med Sci Monit*. 2008;14(8):CR406-10.
154. Nakhjavani M, Khalilzadeh O, Khajeali L, Esteghamati A, Morteza A, Jamali A, et al. Serum oxidized-LDL is associated with diabetes duration independent of maintaining optimized levels of LDL-cholesterol. *Lipids*. 2010;45(4):321-7.
155. Mullins AL, van Rosendal SP, Briskey DR, Fassett RG, Wilson GR, Coombes JS. Variability in oxidative stress biomarkers following a maximal exercise test. *Biomarkers*. 2013;18(5):446-54.

156. Dahwa R, Fassett RG, Wang Z, Briskey D, Mallard AR, Coombes JS. Variability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients. *Biomarkers*. 2014;19(2):154-8.
157. Mueller C. The use of B-type natriuretic peptides in coronary artery disease: utile or futile? *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(3):215-6.
158. Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation*. 2007;116(11):1242-9.
159. Sherwood MW, Kristin Newby L. High-sensitivity troponin assays: evidence, indications, and reasonable use. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000403.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Segre, Carlos Alexandre Wainrober

Sobre a elevação persistente da troponina na ausência de isquemia miocárdica em pacientes diabéticos portadores de doença coronária obstrutiva estável / Carlos Alexandre Segre. -- São Paulo, 2015.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.

Orientador: Whady Armino Hueb.

Descritores: 1.Troponina 2.Diabetes Mellitus tipo 2 3.Doença da artéria coronária 4.Isquemia miocárdica 5.Peptídeo natriurético encefálico 6.Estresse oxidativo

USP/FM/DBD-387/15

DEDICATÓRIA

A meu pai, Carlos David Segre, que desde cedo me incentivou a discutir idéias.

A minha mãe, Golda Wainrober Segre, que não soube que um dia eu seria médico e hoje estaria orgulhosa.

A meus filhos, Guilherme, Renato e Catarina, como uma mensagem de fé em deus e amor ao trabalho.

Ao professor Whady Hueb, mestre e amigo.

Este projeto teve financiamento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP – número 10/52025-9.

Normatização adotada

Essa tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)*.

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

SUMÁRIO

Lista de Abreviaturas e Siglas

Lista de Tabelas

Lista de Figuras

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
1.1. Perspectiva histórica	2
1.2. Troponinas e a fisiologia da contração muscular	4
1.3. Consolidação das troponinas como marcadores de infarto	6
1.4. Troponinas ultra-sensíveis	10
1.5. Troponinas como marcadores de risco na população	12
1.6. Doença coronária crônica e troponinas	16
1.7. Diabetes mellitus e troponinas	19
2. OBJETIVOS	22
3. MÉTODOS	24
3.1. Desenho do estudo	25
3.2. Recrutamento dos pacientes	25
3.3. Diagnóstico do diabetes mellitus tipo 2	26
3.4. Análise laboratorial.....	26
3.5. Determinação da troponina I	27
3.6. Cálculo amostral	28
3.7. Análise estatística	28
4. RESULTADOS	29
4.1. Pacientes estudados	30
4.2. Características basais	30
4.3. Concentrações de troponina nos grupos DAC e controle.....	32
4.4. BNP e variáveis de estresse oxidativo	34
5. DISCUSSÃO	35
6. CONCLUSÕES	42
7. REFERÊNCIAS	44

LISTAS

ABREVIATURAS E SIGLAS

AVE	acidente vascular encefálico
BNP	peptídeo natriurético tipo B
CKMB	creatinofosfoquinase fração MB
CPK	creatinofosfoquinase
DAC	doença arterial coronária
DHL	desidrogenase láctica.
DM	diabetes mellitus
DP	desvio-padrão
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HbA1C	hemoglobina glicada
HDL	lipoproteína de alta densidade
IQR	intervalo interquartil
IM	infarto do miocárdio
IMC	índice de massa corpórea
InCor	Instituto do Coração
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LDL oxidado	lipoproteína de baixa densidade oxidada

TABELAS

Tabela 1 - Elevação de troponina na ausência de isquemia aguda.....	9
Tabela 2 - Características clínicas e laboratoriais.....	31
Tabela 3 - Regressão logística, multivariada para presença de DAC.....	33
Tabela 4 - BNP e variáveis de estresse oxidativo.....	34

FIGURAS

Figura 1 - Linha do tempo com evolução dos marcadores de infarto do miocárdio	3
Figura 2 - Complexo de troponinas e tropomiosina	5
Figura 3 - Eventos após alta com relação à concentração de Troponina T	7
Figura 4 - Elevação de troponinas no consenso de 2012	11
Figura 5 - Curvas de liberação de troponinas após infarto agudo e estresse miocárdico sem evidência de necrose	15
Figura 6 - Concentração de troponina I nos pacientes diabéticos com e sem DAC	32
Figura 7 - Sensibilidade e especificidade da troponina na DAC.....	33

RESUMO

Segre CA. *Sobre a elevação persistente de troponina em pacientes diabéticos, portadores de doença coronária obstrutiva estável* [tese]. São Paulo; Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, 2015.

Introdução: A determinação de troponinas I e T é considerado o padrão ouro para diagnóstico do infarto agudo do miocárdio. Novos métodos foram desenvolvidos possibilitando a determinação de troponinas em concentrações mínimas no plasma atualmente, abaixo de picogramas/mL. A pesquisa com estes novos marcadores mostrou concentrações detectáveis na população geral e também em pacientes com diferentes doenças associadas. Tem-se demonstrado correlação entre a elevação destes marcadores e mortalidade cardíaca e não cardíaca. Diabetes mellitus e doença arterial coronária são preditores conhecidos da elevação de troponinas. Não se sabe se há diferença entre as concentrações de troponinas em pacientes diabéticos com e sem doença arterial coronária. **Objetivo:** Quantificar as concentrações de troponinas em dois subgrupos de pacientes diabéticos: um grupo com doença arterial coronária e um segundo grupo controle - sem doença arterial coronária e comparar os resultados destes grupos. **Métodos:** Concentrações de troponinas foram determinadas em pacientes diabéticos: com e sem doença arterial coronária. Os pacientes foram pareados por idade e índice de massa corpórea. Ambos os grupos de pacientes tinham função ventricular avaliada como normal, pela ventriculografia no cateterismo ou por ecocardiografia transtorácica. Pacientes com fibrilação atrial e hipertrofia ventricular foram excluídos. As concentrações de BNP, nitrotirosina, mieloperoxidase e LDL oxidado também foram determinadas em ambos os grupos. **Resultados:** 95 pacientes participaram do estudo: 50 pacientes com doença arterial coronária (idade média=63,3 a, 58% masc) e 45 pacientes com artérias coronárias angiograficamente normais (idade média=61,4 a, 39,5% masc). As Concentrações de troponina foram significativamente mais elevadas em pacientes diabéticos com doença arterial coronária em relação aos pacientes do grupo controle (mediana=12,0 pg/mL (IQR=8,0-18,0) vs 7,0 pg/ mL (IQR =5,9-10,0)), respectivamente; $p=0,0001$. Com concentração de troponina maior que 9 pg/mL, a área sob a curva ROC para o diagnóstico de doença arterial coronária foi 0,712 com sensibilidade de 70% e especificidade de 66%. Concentrações plasmáticas de Peptídeo Natriurético Tipo B e variáveis de estresse oxidativo (mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado) não foram diferentes entre os grupos. Análise multivariada para analisar associação com DAC mostrou que gênero ($p=0,04$), glicose sérica ($p=0,03$) e troponina I ($p=0,01$) tiveram significância estatística independente. **Conclusão:** Neste estudo a elevação de troponina correlacionou-se com a presença de doença arterial coronária em pacientes diabéticos, permitindo concluir que as troponinas podem ser usadas como biomarcadores nesta população de alto risco.

Descritores: troponina; diabetes mellitus tipo 2; doença da artéria coronária; peptídeo natriurético encefálico; estresse oxidativo.

ABSTRACT

Segre CA. *Troponin in diabetic patients with and without chronic coronary artery disease* [thesis]. Sao Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2015.

Background: Cardiac-specific troponin detected with the new high-sensitivity assays can be chronically elevated in response to cardiovascular comorbidities and confer important prognostic information, in the absence of unstable coronary syndromes. Both diabetes mellitus and coronary artery disease are known predictors of troponin elevation. It is not known whether diabetic patients with coronary artery disease have different levels of troponin compared with diabetic patients with normal coronary arteries. To investigate this question, we determined the concentrations of troponin in two groups of diabetic patients: those with multivessel coronary artery disease and those with angiographically normal coronary arteries. **Methods:** We studied 95 diabetic patients and compared hsTnI in serum samples from 50 patients with coronary artery disease (mean age=63.7, 58% male) with 45 controls with angiographically normal coronary arteries. Brain natriuretic peptide and the oxidative stress biomarkers myeloperoxidase, nitrotyrosine, and oxidized LDL were also determined. **Results:** Diabetic patients with coronary artery disease had higher levels of troponin than did controls (median values, 12.0 pg/mL (IQR: 8,0-18,0) vs 7.0 pg/mL (IQR: 5,9-10,0), respectively; $p=0.0001$). The area under the ROC curve for the diagnosis of CAD was 0.712 with a sensitivity of 70% and a specificity of 66%. Plasma BNP levels and oxidative stress variables (myeloperoxidase, nitrotyrosine, and oxidized LDL) were not different between the two groups. In a multivariate analysis, gender ($p=0.04$), serum glucose (0.03) and hsTnI ($p=0.01$) had independent statistical significance. **Conclusion:** High-sensitivity troponin elevation is related to the presence of obstructive coronary artery disease in diabetic patients with multiple associated cardiovascular risk factors. High-sensitivity troponin may serve as a biomarker in this high-risk population.

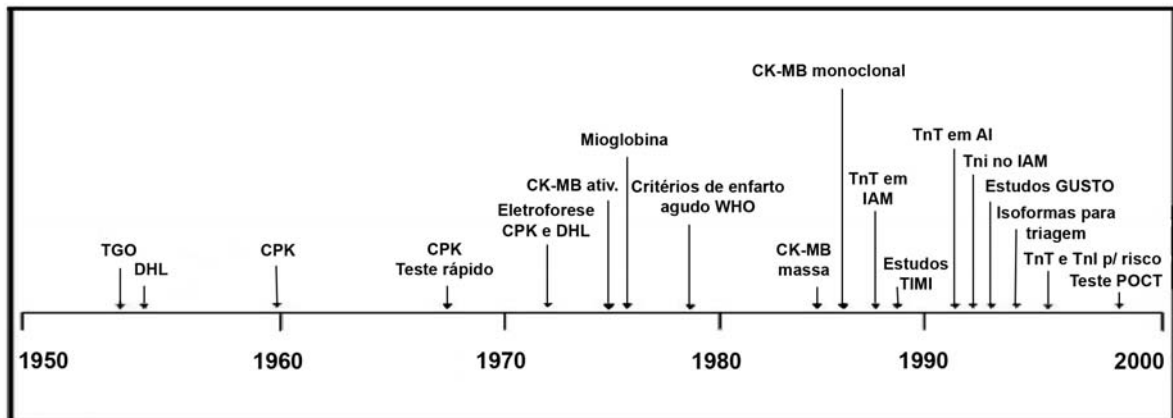
Descriptors: troponin; diabetes mellitus type 2; coronary artery disease; myocardial ischemia; natriuretic peptide, brain; oxidative stress.

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

1.1 PERSPECTIVA HISTÓRICA

Como se vê na representação temporal da figura 1, a transaminase glutâmico oxalacética (TGO) foi o primeiro marcador de necrose miocárdica descrito em trabalho pioneiro de 1954⁽¹⁾. Em 1956 foi caracterizada a elevação de desidrogenase láctica (DHL) após infarto⁽²⁾. Com isso houve grande impulso na busca por marcadores de infarto do miocárdio. Em 1960 a creatinofosfoquinase (CPK) foi descrita como marcador de lesão em músculo esquelético e miocárdio⁽³⁾. Ao mesmo tempo foram caracterizadas as isoenzimas da DHL⁽⁴⁾. Durante a década de 60 avanços técnicos permitiram o desenvolvimento de teste rápido e reprodutível para determinação quantitativa de CPK⁽⁵⁾. Posteriormente foi descrita a elevação da fração específica de CPK do músculo cardíaco: creatinofosfoquinase fração MB (CKMB)⁽⁶⁾ que, em seguida, teve seu papel determinado, no diagnóstico do infarto agudo⁽⁷⁾. A partir de 1980 começaram os testes com trombolíticos no infarto agudo, sendo que as técnicas de eletroforese que eram utilizadas até então demoravam de 2 a 3h para serem realizadas e se tornaram demasiadamente lentas diante da possibilidade de tratamento imediato do infarto⁽⁸⁾. Nesse momento foram desenvolvidas as técnicas específicas para a determinação quantitativa de CKMB através de anticorpo monoclonal altamente sensível, posteriormente chamada CKMB-massa⁽⁹⁾. Com este avanço houve grande ganho de sensibilidade e demonstrou-se de modo definitivo que a musculatura esquelética contém pequenas quantidades (1-3%) de CKMB⁽¹⁰⁾. Portanto, lesão na musculatura esquelética, por exemplo, após cirurgia⁽¹¹⁾, trauma⁽¹²⁾ ou corrida⁽¹³⁾, pode cursar com concentrações detectáveis de CKMB na circulação.



Modificado de: What-when-how (diagnostics of ischemic heart disease) Part 1. [Citado em 2015 agosto 04]. Disponível em: <http://what-when-how.com/novel-strategies-in-ischemic-heart-disease/cardiac-biomarkers-diagnostics-of-ischemic-heart-disease-part-1/>.

Figura 1 - Linha do tempo com evolução dos marcadores de infarto do miocárdio

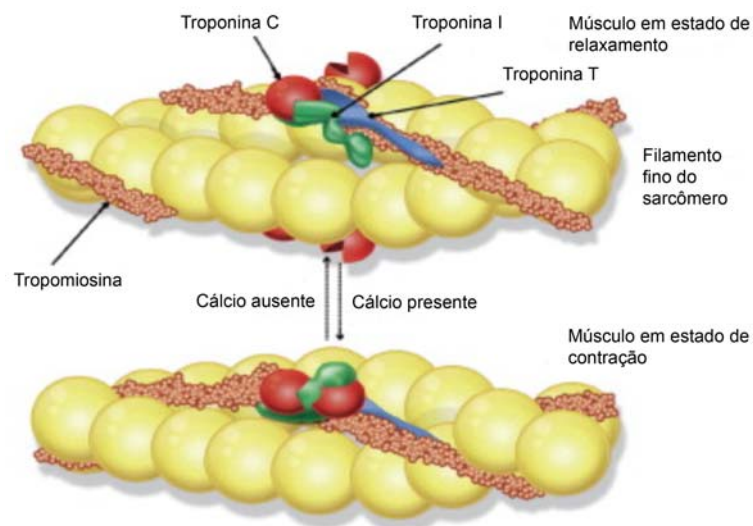
Quando se tornou evidente a falta de especificidade da CKMB-massa, a pesquisa se voltou para as proteínas do sarcômero – mais abundantes e mais específicas. Em primeiro lugar as cadeias leves de miosina que se demonstraram idênticas às do musculo esquelético e por este motivo foram abandonadas como marcador de infarto⁽¹⁴⁾. Posteriormente iniciou-se a pesquisa com as troponinas: a troponina I foi descrita pela primeira vez como marcador específico de infarto do miocárdio em 1987⁽¹⁵⁾. Em 1989 foram desenvolvidos anticorpos inicialmente para a troponina T⁽¹⁶⁾ e em 1992 para a troponina I. A troponina T foi liberada para uso como marcador no infarto agudo em 1995 e a troponina I em 1996⁽¹⁷⁾.

1.2 TROPONINAS E A FISIOLOGIA DA CONTRAÇÃO MUSCULAR

As troponinas são um complexo de proteínas que regulam a contração do músculo estriado através do controle da interação entre actina e miosina mediada pelo cálcio. Os filamentos de actina são formados por uma dupla fita, cada uma com peso molecular de 42 kilodaltons. O mecanismo de contração muscular não é perfeitamente conhecido. De acordo com o principal modelo proposto, ocorrem deslocamentos nanométricos dos filamentos de actina em relação aos de miosina através da interação das cabeças de miosina com sítios de ligação nos filamentos de actina. O controle sobre a contração muscular se dá pela inibição ativa deste deslocamento e a proteína cuja função é a inibição tônica deste processo é a tropomiosina (representada em rosa na figura 2). Ela fica enrolada em espiral em volta de todo o filamento de actina e tem 70 kilodaltons de peso molecular. Presos à tropomiosina em intervalos regulares, de 2,7 nanômetros, que coincidem com os sítios ativos de ligação da actina às cabeças de miosina, temos o complexo de troponinas. Acredita-se que este complexo fixe a tropomiosina aos filamentos de actina e tenha importante função no controle da contração muscular⁽¹⁸⁾.

Sabe-se que o filamento de actina, na presença de ATP e magnésio, liga-se fortemente ao de miosina. Mas se o complexo de troponinas-tropomiosina for acrescentado, esta ligação é inibida. O complexo de troponinas consiste de três subunidades: Troponina C, de 18 kilodaltons que, conforme o modelo proposto, liga-se ao cálcio; Troponina I, de 23 kilodaltons, cuja ligação à actina inibe as interações actina-miosina; Troponina T, de 35 kilodaltons que se liga à tropomiosina, portanto liga o complexo de troponinas ao filamento de actina. Em repouso, acredita-se que os sítios ativos de ligação de actina com as cabeças de miosina sejam cobertos ou

inibidos pelo complexo tropomiosina-troponina. Com a entrada de grandes quantidades de cálcio, o mecanismo de inibição da contração é inativado. Supõe-se que isto se dê da seguinte maneira: os íons cálcio se ligam à troponina C e o complexo muda de conformação e empurra a tropomiosina para um sulco entre os dois filamentos de actina. Este movimento libera os sítios de ligação de actina que passam a atrair as cabeças de miosina, permitindo a contração muscular, representada na figura 2⁽¹⁸⁻²⁰⁾. A sequência de aminoácidos da troponina C é a mesma do músculo estriado; já a das troponinas I e T é específica do músculo cardíaco⁽²¹⁾.



Modificado de: Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(3):169-76.

Figura 2 - Complexo de Troponinas e Tropomiosina

1.3 CONSOLIDAÇÃO DAS TROPONINAS COMO MARCADORES DE INFARTO

Quando da descoberta das troponinas como marcadores, os ensaios de CKMB-massa para diagnóstico de infarto tinham, a tal ponto, consolidada sua aplicação, que o primeiro trabalho com Troponina T foi recusado pelas revistas “Circulation” e “Clinical Chemistry” porque as isoenzimas de CKMB eram considerados o marcador perfeito e deveriam permanecer como o padrão para diagnóstico de infarto do miocárdio⁽¹⁴⁾.

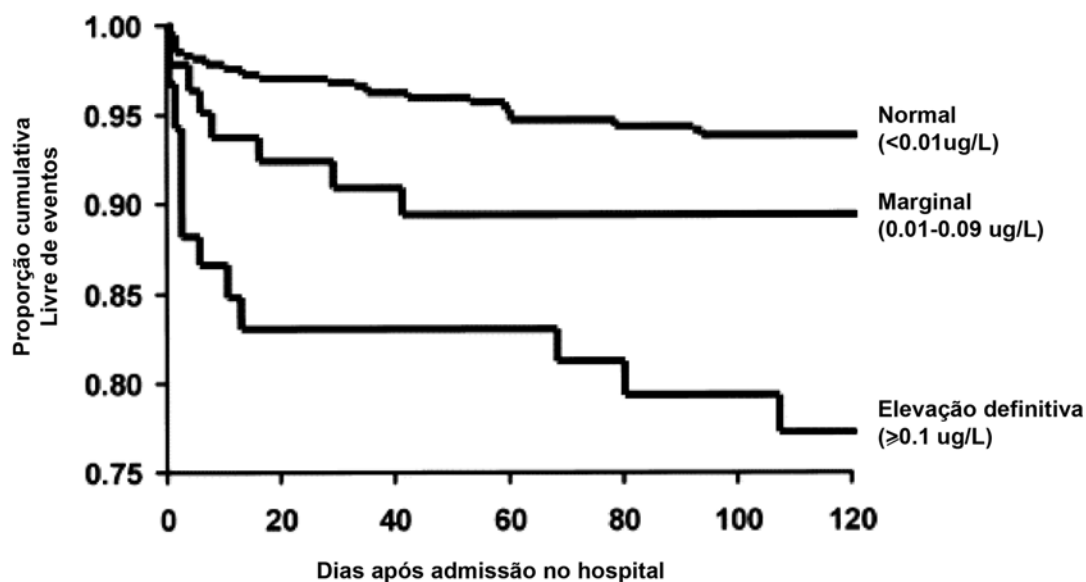
Sabe-se que nos anos seguintes as troponinas consolidaram-se como o principal marcador de infarto do miocárdio. Isso ocorreu por diferentes motivos: em primeiro lugar as troponinas são realmente marcadores específicos do coração, ao contrário da CKMB, que está presente em pequena quantidade na musculatura esquelética. Foi comprovado que os primeiros “kits” de troponina mantinham a especificidade para acometimento cardíaco, em pacientes com doença muscular aguda ou crônica, em diálise e após maratona⁽²²⁾. No ano 2000, diversas evidências apontavam para as troponinas como o marcador de maior sensibilidade e especificidade para lesão cardíaca⁽²³⁾.

Em segundo lugar, sabe-se que a meia vida da troponina e CKMB são semelhantes, assim como são semelhantes o pico inicial e o decréscimo após o pico, só que a troponina mantém-se detectável dias após o retorno da concentração de CKMB ao nível basal. A liberação contínua de troponina, sete a dez dias após o evento, torna possível o diagnóstico por um período maior. Deste modo, há aumento da sensibilidade em relação à CKMB^(24,25). Após o ano 2000, demonstrou-se a grande

sensibilidade da troponina, também nas primeiras 2 horas pós-infarto e com isso a determinação de troponina substituiu a dosagem de mioglobina⁽²⁶⁾.

Em terceiro lugar, comprovou-se que as troponinas elevam-se na angina instável, em situações nas quais a CKMB é normal, sendo que esta elevação tem importância para diagnóstico e correlação com prognóstico^(24,27-31). Mínimas elevações de troponina em pacientes de baixo risco, com dor torácica e eletrocardiograma normal demonstraram-se associadas com diagnóstico de doença coronária pela cineangiocoronariografia e com prognóstico no acompanhamento em um ano⁽³²⁾. Resultados semelhantes ocorreram com elevações mínimas ou marginais de troponina na emergência⁽³³⁾. Deste modo consolidou-se o valor diagnóstico de pequenas elevações de troponina, que passaram a ser chamados de microinfartos⁽²¹⁾.

A figura 3 ilustra a relação entre elevações marginais de troponina e eventos.



Modificado de Henrikson CA, Howell EE, Bush DE, Miles JS, Meininger GR, Friedlander T, et al. Prognostic usefulness of marginal troponin T elevation. *Am J Cardiol.* 2004;93(3):275-9

Figura 3 - Eventos após alta com relação à concentração de Troponina T

As evidências da importância dos microinfartos tornaram-se a base para a redefinição de infarto do miocárdio no ano 2000⁽³¹⁾ na qual a elevação de troponinas passa a ser o centro da definição de infarto do miocárdio:

“Elevação típica e descida gradual (troponinas) ou elevação e queda mais rápida (CK-MB) dos biomarcadores de necrose miocárdica, associadas com, pelo menos, com uma das situações seguintes:

Sintomas isquêmicos;

Desenvolvimento de uma onda Q patológica no ECG;

Alterações do ECG sugestivas de isquemia do miocárdio (elevação ou depressão do segmento ST);

Intervenção nas artérias coronárias (angioplastia coronária);

Exame de imagem com evidência de nova perda de miocárdio viável ou nova anormalidade de contração segmentar de parede.”

Com a publicação do consenso e o uso mais disseminado das troponinas para diagnóstico de infarto, principalmente a partir do ano 2000, tornou-se evidente que, apesar da grande especificidade, estes marcadores elevam-se em diferentes situações clínicas, tais como: pericardite⁽³⁴⁾, miocardite⁽³⁵⁾, embolia pulmonar⁽³⁶⁾, sepse⁽³⁷⁾, insuficiência cardíaca congestiva⁽³⁸⁾ e taquicardia⁽³⁹⁾. Foram descritas também elevações após exercício físico extenuante⁽⁴⁰⁾, após AVE⁽⁴¹⁾. A elevação na insuficiência renal crônica era bem descrita desde as primeiras publicações com troponinas⁽⁴²⁾.

No consenso de 2007, a definição de infarto foi, em linhas gerais, mantida,⁽⁴³⁾. Porém, neste momento, a elevação de troponinas em diversas situações

já era fato conhecido e passou a receber ênfase no diagnóstico diferencial⁽⁴⁴⁻⁴⁶⁾. Na Tabela 1, são listadas condições associadas à elevação de troponina na ausência de isquemia.

Tabela 1 - Elevação de troponina na ausência de isquemia

ESTRESSE MIOCÁRDICO AGUDO

Tromboembolismo pulmonar, dissecção aguda de aorta, exercício físico de grande intensidade (maratona), arritmia complexa, síndrome de Takotsubo, acidente vascular cerebral, hemorragia subaracnóide, sangramento gastrointestinal, rabdomiólise.

TRAUMA

Trauma torácico fechado, pós-cirurgia cardíaca ou biópsia endomiocárdica, pós-angioplastia, pós-ressuscitação, pós-cardioversão elétrica.

QUADROS INFLAMATÓRIOS

Miocardite, pericardite, endocardite, vasculopatia do transplante.

QUADROS SISTÊMICOS GRAVES

Sepse, grandes queimados, púrpura trombocitopênica trombótica.

INSUFICIÊNCIA CARDÍACA AGUDA E CRÔNICA

Valvopatias agudas e crônicas, quadros infiltrativos cardíacos: amiloidose, hemocromatose.

HIPERTENSÃO ARTERIAL COM HIPERTROFIA VENTRICULAR

Outras situações associadas a hipertrofia: miocardiopatia hipertrófica, estenose aórtica.

CARDIOTOXICIDADE

Envenenamento por mordida de cobra ou picada de aranha e escorpião, intoxicação por monóxido de carbono, toxicidade por quimioterapia (adriamicina, 5-fluorouracil).

DOENÇAS CRÔNICAS

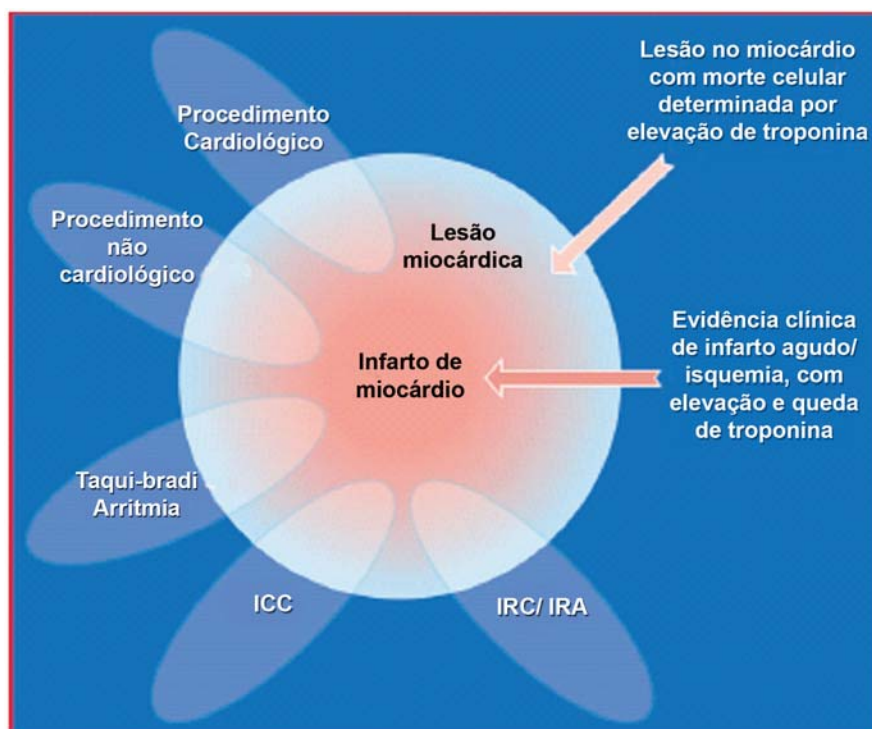
Diabetes mellitus, hipotireoidismo, insuficiência renal crônica, lupus eritematoso sistêmico e artrite reumatóide.

1.4 TROPONINAS ULTRA-SENSÍVEIS

Com o objetivo de aumentar a sensibilidade para diagnóstico nas primeiras horas após um quadro isquêmico agudo do miocárdio, novas técnicas para detecção de troponinas foram desenvolvidas permitindo a identificação de concentrações mínimas de troponinas no plasma. Estes novos métodos receberam o nome de troponinas de alta sensibilidade ou ultra-sensíveis e resultaram em maior sensibilidade para diagnóstico de infarto⁽⁴⁷⁾. Os primeiros “kits” destas troponinas começaram a ser comercializados em 2004⁽⁴⁸⁾. As proteínas detectadas com estas novas técnicas são as mesmas utilizadas para diagnóstico desde a sua descrição inicial, mas foram feitos diferentes aperfeiçoamentos na técnica de eletroquimioluminescência^(49,50). Com estes avanços, as troponinas são determinadas com alta precisão, mesmo em concentrações cada vez mais baixas, da ordem de nanogramas por mililitro, com os ensaios mais sensíveis disponíveis atualmente^(51,52).

O grande aumento na sensibilidade dos testes ocorreu à custa de diminuição de especificidade, inclusive nas síndromes coronárias agudas. Com as novas metodologias desenvolvidas, as elevações crônicas de troponinas se tornaram a tal ponto comuns que, utilizando-se a título de ilustração o exemplo do último consenso de infarto do miocárdio, publicado em 2012, a elevação de marcadores deixa de ser o centro do diagnóstico (como era no consenso anterior): “o clínico deve fazer diagnóstico de isquemia primária, problemas de oferta/demanda de oxigênio ou pós-cirurgia cardíaca, angioplastia, etc.” Na figura 4, reproduzimos ilustração do consenso de 2012, que ilustra bem a dificuldade de diagnóstico: “se a elevação de troponina deve-se à lesão no miocárdio associada a procedimento cardíaco ou não cardíaco, taqui ou bradi-arritmia, insuficiência cardíaca congestiva ou insuficiência

renal. Entretanto, estas situações podem também estar associadas com infarto do miocárdio...” O próprio texto do consenso faz a seguinte ressalva: “a complexidade das circunstâncias clínicas pode, algumas vezes, tornar difícil determinar onde os casos individuais se encontram nos ovais da figura”⁽⁵³⁾. Em resumo, o problema principal passa a ser a elevação de troponinas em pacientes com DAC estável e outras doenças crônicas que são atendidos em pronto-socorro com sintomas inespecíficos de dispnéia ou dor torácica.



Modificado de: Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2012;126(16):2020-35.

Figura 4 - Elevação de Troponinas no consenso de 2012

1.5 TROPONINAS COMO MARCADORES DE RISCO NA POPULAÇÃO GERAL

Em 2006 já havia documentação consistente com relação à elevação de troponinas em diferentes situações clínicas sem associação com isquemia ou infarto. A partir deste conhecimento foi publicado artigo pioneiro, utilizando a troponina como marcador para rastreamento na população geral. A prevalência de TnT detectável foi de 0,7%. A proposta demonstrou-se válida e houve correlação da elevação de TnT com insuficiência cardíaca, hipertrofia ventricular, diabetes mellitus e doença renal crônica⁽⁵⁴⁾.

Mantendo o objetivo de utilizar as troponinas para rastreamento na população, o mesmo grupo de autores repetiu a análise nas mesmas amostras congeladas, desta vez com “kit” de troponina T ultra-sensível de 2010. Com isso demonstrou-se que a prevalência de concentrações detectáveis aumentou de 0,7% para 25%. Além disso, os indivíduos com troponinas detectáveis tinham alterações cardíacas estruturais: aumento da espessura de parede e disfunção ventricular, e documentou-se a correlação entre concentrações detectáveis de TnT e mortalidade geral⁽⁵⁵⁾. Os principais achados deste trabalho, quais sejam: grande porcentagem de indivíduos com troponina detectável e correlação das concentrações de troponinas com: variáveis clínicas, alterações anatômicas, e diferentes indicadores de prognóstico, tornaram-se comuns mediante a aplicação das novas troponinas em pesquisa na população geral.

O critério utilizado para analisar as concentrações de troponinas na população geral é diferente daquele utilizado para diagnóstico de infarto, ou seja, concentrações acima do percentil 99% de uma população saudável⁽⁴⁴⁾. Considera-se troponina

detectável qualquer elevação acima do limiar de detecção e abaixo do percentil 99%⁽⁵⁶⁾, sendo que os testes mais sensíveis disponíveis atualmente chegam a ter mais de 95% de detecção na população geral⁽⁵⁷⁾.

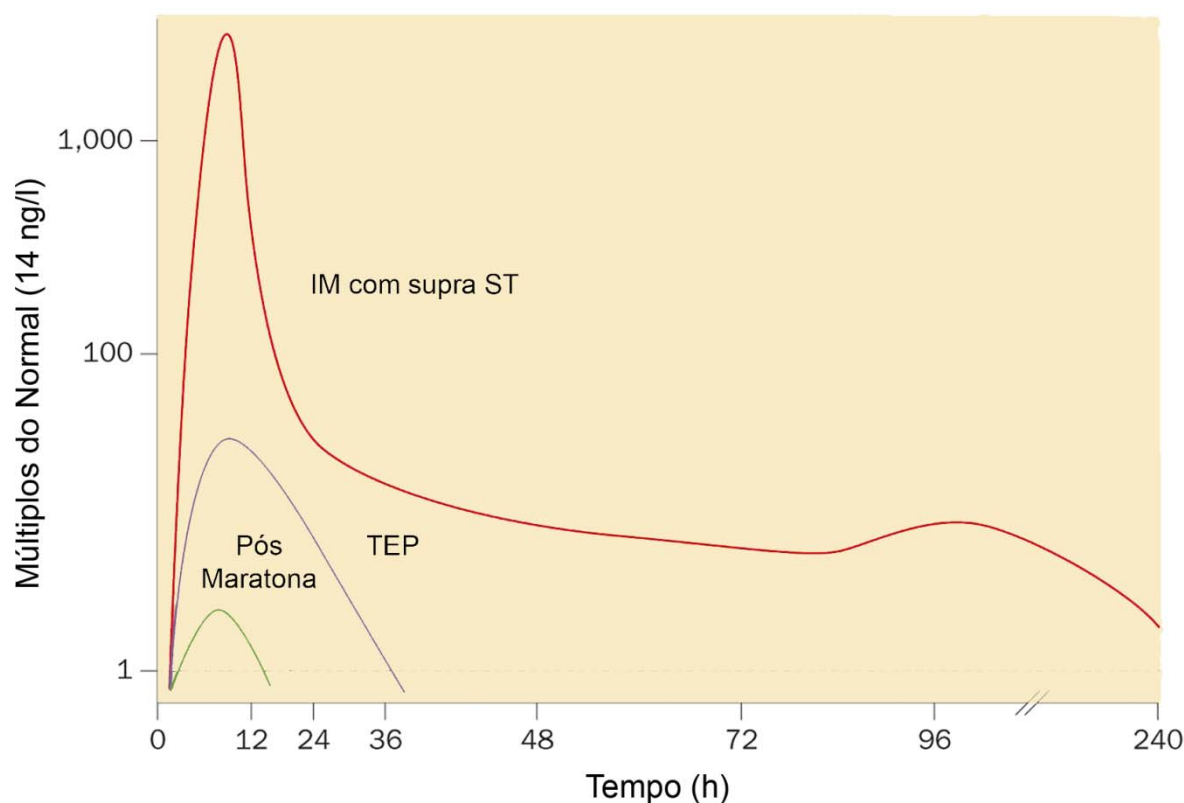
A pesquisa com troponinas detectáveis na população demonstrou que concentrações elevadas de troponinas têm correlação com: mortalidade geral^(55,58-62), incidência de insuficiência cardíaca^(58,61,63,64), doença arterial coronária⁽⁶¹⁾, eventos cardíacos maiores⁽⁶⁴⁾ e mortalidade cardiovascular^(55,59,61,63,65).

Os achados se mantêm, mesmo com pequenas elevações de troponina, pouco acima do limiar de detecção^(66,67). Devido a estas correlações, as novas troponinas vêm se mostrando marcadores úteis de risco na população e podem vir a ser usadas para rastreamento na população geral⁽⁶⁵⁾ e também em diferentes subgrupos^(56,63,68,69).

A fisiopatologia da elevação de troponinas em indivíduos normais ainda não está bem esclarecida. Pela grande prevalência de elevação na população geral, supõe-se que, na maioria dos casos, a causa não seja necrose miocárdica. Entre diversas possibilidades descritas⁽⁷⁰⁾, considera-se que troponinas podem ser liberadas na circulação, na ausência de necrose, através de três mecanismos principais: 1. extravasamento de troponinas de um “pool” citoplasmático, que pode estar associado à distensão da parede do miocárdio⁽⁷¹⁻⁷³⁾ com aumento de permeabilidade de membrana; 2. liberação de fragmentos pequenos de troponinas após proteólise⁽⁷⁴⁻⁷⁶⁾; 3. apoptose: neste caso, a ativação de caspases pode mediar a clivagem de proteínas estruturais e consequente liberação de troponinas⁽⁷⁷⁾. São descritos ainda mecanismos alternativos que poderiam explicar a liberação de troponinas na ausência de necrose: existe uma taxa de cerca de 1% ao ano de regeneração de cardiomiócitos em indivíduos jovens, mas esta taxa, por ser muito baixa e cair com o envelhecimento,

difícilmente justifica a elevação de troponinas na circulação. Em hepatócitos e também em cultura de células miocárdicas formam-se vesículas ou “blebs” que se desprendem da membrana celular sem necrose, mas não há evidência de que este mecanismo ocorra em células miocárdicas humanas⁽⁷⁰⁾.

Com relação ao extravasamento do “pool” citoplasmático, a presença de troponinas livres no citoplasma foi descrita pela primeira vez em 1991, pelo mesmo grupo que descreveu a troponina T para diagnóstico de infarto⁽⁷⁸⁾. As troponinas T e I existiriam numa forma livre no citoplasma: não complexadas com a tropomiosina ou com a troponina C, estas troponinas livres correspondem a 3-8% do total de troponinas do cardiomiócito^(22,72,73,79). Evidências experimentais indicam que com lesão ou estresse dos cardiomiócitos, estas troponinas citoplasmáticas poderiam ser liberadas numa forma intacta em resposta ao estiramento do músculo cardíaco. Considera-se, também, que esta liberação possa ser mediada por proteínas transmembrana chamadas integrinas⁽⁷¹⁾. Portanto, as troponinas são marcadores específicos para o tecido cardíaco, mas não para necrose miocárdica⁽⁸⁰⁾. Como representado na figura 5, a presença de troponinas livres no citoplasma justificaria o pico inicial no padrão bifásico da liberação de troponinas do infarto, sendo que a curva tardia de liberação ocorre por degradação inflamatória das troponinas complexadas à tropomiosina⁽⁷⁰⁾.



Modificado de: Giannitsis E, Katus H A. Cardiac troponin level elevations not related to acute coronary syndromes. *Nat Rev Cardiol.* 2013; 10(11): 623-34.

Figura 5 - Curvas de liberação de troponinas após infarto agudo e estresse miocárdico sem evidência de necrose

Também na figura 5, são representados os exemplos mais clínicos mais comuns nos quais se considera haver liberação de troponinas do citoplasma, sem evidência de necrose miocárdica, que são: a embolia pulmonar⁽⁸¹⁾ e após maratona⁽⁸²⁾. Nestes casos, a curva de liberação corresponde à do pico inicial do infarto, que pode ser devida à liberação do “pool” citoplasmático. Visando à demonstração, de modo mais específico e controlado, da elevação de troponinas na ausência de necrose miocárdica, publicação recente utilizou-se de taquicardia induzida por marcapasso atrial, imediatamente antes de cineangiocoronariografia e mostrou elevação de troponinas, tanto nos pacientes com, como nos sem DAC⁽⁸³⁾.

Outra linha de evidências considera que haja liberação de fragmentos de troponinas por proteólise ou apoptose que se iniciaria por uma via comum mediada por uma protease dependente de cálcio, a calpaína. Segundo um dos modelos propostos: 1. ocorre uma sobrecarga de cálcio, seja por aumento na distensão do miocárdio⁽⁸⁴⁾ ou por isquemia⁽⁷⁵⁾; 2. a protease calpaína é ativada e faz proteólise de TnI⁽⁷⁵⁾ e de TnT⁽⁸⁵⁾; 3. fragmentos pequenos de troponina podem, então, ser liberados na circulação^(70,74); 4. a calpaína pode interagir com a caspase-3, protease mediadora de apoptose⁽⁸⁶⁾; 5. a inibição de caspase-3 após infarto experimental diminui a proteólise de troponina I⁽⁸⁷⁾. A proteólise de troponinas pode fazer parte de uma resposta de modulação da contratilidade do miocárdio em situação de estresse^(85,88,89).

1.6 DOENÇA CORONÁRIA CRÔNICA E TROPONINAS

Sabe-se que pacientes com DAC têm concentrações de troponinas significativamente mais elevadas em relação aos pacientes sem DAC^(56,83). A carga de aterosclerose avaliada pelo número de artérias acometidas na angiotomografia de coronárias⁽⁹⁰⁾ ou pelo “syntax score” na cineangiocoronariografia⁽⁹¹⁾ correlacionou-se com elevação nas concentrações de TnT.

As implicações prognósticas da elevação de troponinas em pacientes com DAC também são conhecidas. Concentrações elevadas de troponinas têm correlação com: mortalidade cardiovascular^(56,92), evolução para insuficiência cardíaca^(56,92), infarto do miocárdio⁽⁹²⁾ e mortalidade geral⁽⁹³⁾. Além disso, o uso combinado da elevação de TnT com tomografia de coronárias mostrou correlação com desfecho combinado de infarto e morte cardíaca em pacientes com risco intermediário, sendo

que os pacientes com grande carga de placa e elevação de TnT tiveram a maior taxa de eventos⁽⁹⁴⁾.

Entre as diversas hipóteses aventadas para a liberação crônica de troponinas, em pacientes com DAC, consideramos mais relevantes, aquelas que associam a elevação de troponinas com eventos isquêmicos de pequena magnitude. Sabe-se que episódios silenciosos de isquemia, diagnosticados por alterações eletrocardiográficas em monitorização contínua em terapia intensiva, são associados com elevação de TnT⁽⁹⁵⁾. TnI determinada antes e após cintilografia de perfusão miocárdica associada ao teste de esforço correlacionou-se com a magnitude de isquemia transitória determinada⁽⁹⁶⁾. Outros trabalhos com TnT não demonstraram elevação relacionada à isquemia transitória em teste de esforço^(97,98). O conjunto dos achados, porém, reforça a idéia de que a isquemia silenciosa ou subclínica possa induzir à liberação de troponinas.

A fisiopatologia dos episódios de isquemia silenciosa pode estar relacionada à ruptura de uma placa instável seguida da oclusão de pequenos vasos⁽⁹⁹⁾ ou à microembolização de placas de ateroma⁽¹⁰⁰⁾, situação na qual, após ruptura ou erosão de uma placa instável, restos de placas de ateroma e plaquetas ativadas são carregados pela circulação, embolizando e ocluindo a microcirculação⁽¹⁰¹⁻¹⁰³⁾. Placas não obstrutivas também podem estar associadas à embolização⁽¹⁰⁴⁾.

Pela dificuldade técnica de caracterizar a microcirculação utilizando-se métodos de imagem, as evidências relativas à microembolização são indiretas. Sabe-se, por exemplo, que em pacientes com angina estável, submetidos à angiotomografia de coronárias, há correlação de elevação de TnT com placas não calcificadas e remodeladas. A ruptura crônica e silenciosa destas placas não

calcificadas e subsequente microembolização são consideradas causa potencial da elevação de troponina⁽¹⁰⁴⁾. Resultados semelhantes foram encontrados por tomografia de coerência óptica associada com determinação de TnI antes da realização de angioplastia⁽¹⁰⁵⁾. Novas técnicas de ressonância magnética permitem melhor caracterização do interstício do miocárdio, o chamado volume extracelular. O aumento de volume extracelular está relacionado a edema ou alterações intersticiais difusas que, por sua vez, podem estar relacionadas à microembolização de placas. Pesquisa realizada em nossa instituição mostrou correlação de TnI com volume extracelular determinado por ressonância magnética, em pacientes com DAC⁽¹⁰⁶⁾.

Portanto, a liberação de troponinas em pacientes com DAC pode estar relacionada a embolia e/ou oclusão de pequenos vasos. Porém, outros mecanismos foram descritos para explicar a liberação de troponinas na DAC: na isquemia experimental seguida de reperfusão, foi descrito padrão de liberação de troponinas semelhante ao observado na liberação do “pool” citoplasmático^(107,108). É descrito, com base em evidências experimentais, modelo em que a isquemia induz ativação de caspases que clivam troponinas cujos fragmentos são liberados na circulação. De fato, fragmentos de troponinas foram detectados na circulação após infarto do miocárdio⁽¹⁰⁹⁾.

Extensa linha de evidências associa o desenvolvimento de aterosclerose ao estresse oxidativo^(110,111). Os marcadores de estresse oxidativo podem ser enzimas associadas à produção de radicais livres como a mieloperoxidase e moléculas que sofrem ação do estresse oxidativo, como a nitrotirosina e o LDL oxidado⁽¹¹²⁾. A mieloperoxidase está associada com presença de DAC⁽¹¹³⁾ e, em pacientes com DAC estabelecida, demonstrou-se associação de concentrações elevadas de

mieloperoxidase com mortalidade geral e cardiovascular^(114,115). As concentrações de nitrotirosina⁽¹¹⁶⁾ e de LDL oxidado^(117,118) também se associam à presença de DAC.

Outros marcadores foram investigados com relação a DAC. Existem evidências que correlacionam concentrações de BNP e DAC em pacientes com função ventricular normal⁽¹¹⁹⁾ e que correlacionam BNP com isquemia em prova isquêmica⁽¹²⁰⁾.

1.7 DIABETES MELLITUS E TROPONINAS

Além do aumento de risco de DAC^(121,122), sabe-se que o diabetes é uma doença microvascular e pode causar disfunção endotelial e aumento do risco de trombose, independentemente da aterosclerose em artérias epicárdicas⁽¹²³⁾.

Considera-se que a fisiopatologia do desenvolvimento das complicações micro e macrovasculares seja semelhante⁽¹²³⁾, de acordo com o principal modelo proposto⁽¹²⁴⁾; a hiperglicemia gera excessiva oferta de substratos para a cadeia respiratória. A sobrecarga de substratos gera um excesso de elétrons que acabam reduzindo parcialmente o oxigênio da cadeia respiratória, produzindo radicais livres de oxigênio e ativando as quatro vias clássicas pelas quais a hiperglicemia gera as lesões do diabetes⁽¹²⁵⁾, quais sejam: 1. via dos polióis: nas células, o excesso de glicose é metabolizado a sorbitol (poliol) pela aldose-reductase e aumenta a suscetibilidade ao estresse oxidativo⁽¹²⁶⁾; 2. via das hexoses: o excesso de frutose-6-fostato desvia o fluxo para esta via que modifica fatores de transcrição e a expressão gênica, podendo aumentar a expressão de PAI-1 (plasminogen activator inhibitor-1)⁽¹²⁷⁾ e provocar efeitos pró-trombóticos; 3. via da proteína quinase C: a

hiperglicemia aumenta a síntese de diacilglicerol que leva à ativação da proteína quinase C, cujos efeitos pró-trombótico e pró-inflamatório provocam vasoconstrição e diminuem atividade da óxido nítrico sintase, causando disfunção endotelial⁽¹²⁸⁾; 4. produtos avançados de glicosilação, formados pela reação não enzimática de precursores derivados de proteínas intra e extra-celulares, unem-se a um receptor específico que é expresso como parte da imunidade inata e cuja ativação provoca lesão vascular⁽¹²⁹⁾. Pela importância do estresse oxidativo na fisiopatologia do diabetes, correlaciona-se também lesão em cardiomiócitos com aumento de estresse oxidativo e hiperglicemia associados ao DM^(130,131).

Há uma linha de evidências que relaciona DM ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca, independentemente da coexistência de HAS e DAC. O mecanismo proposto com base em dados experimentais é da apoptose de tecido cardíaco associada à hiperglicemia e ao estresse oxidativo^(132,133). Para esta situação é utilizado o termo cardiomiopatia diabética, referindo-se ao desenvolvimento de disfunção ventricular que ocorre independentemente de quaisquer doenças associadas^(134,135).

De modo consistente com as alterações descritas, desde a primeira publicação com troponinas na população geral, sabe-se que o DM é um determinante de elevação de troponinas⁽⁵⁴⁾. Com os ensaios mais modernos, a TnT chega a ser detectável em 90% de diabéticos na população geral⁽¹³⁶⁾ e demonstrou-se correlação entre concentração de hemoglobina glicada e concentração de troponinas⁽¹³⁷⁾. A elevação de TnT em pacientes diabéticos correlacionou-se com eventos cardiovasculares maiores^(69,138). Já a elevação de TnI correlacionou-se com infarto do miocárdio, eventos cardíacos maiores, insuficiência cardíaca e mortalidade

cardiovascular ⁽¹³⁹⁾. Em diabéticos com doença arterial coronária estabelecida, a elevação de TnT correlacionou-se com eventos cardiovasculares maiores⁽¹⁴⁰⁾. Não há dados consistentes com relação às concentrações de troponinas em pacientes diabéticos sem DAC documentada.

Em pacientes diabéticos, elevação de BNP correlacionou-se com disfunção ventricular sistólica e diastólica⁽¹⁴¹⁾ e isquemia silenciosa⁽¹⁴²⁾; correlacionou-se também com mortalidade⁽¹⁴³⁾ e eventos cardiovasculares maiores em 3 anos⁽¹⁴⁴⁾. Há evidências de que o BNP possa ser associado à troponina para determinação de risco em pacientes diabéticos ⁽¹³⁸⁾.

Portanto, diabetes mellitus e DAC são preditores conhecidos de elevação de troponinas. Não se sabe se pacientes diabéticos com DAC apresentam concentrações de troponinas diferentes dos diabéticos sem DAC. Para investigar esta questão, foram determinadas as concentrações de troponinas em dois grupos de pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados: o primeiro com DAC de padrão de acometimento multiarterial e outro com artérias angiograficamente normais. Concentrações de BNP, nitrotirosina, mieloperoxidase e LDL oxidado também foram analisadas em subgrupos dos dois grupos.

2 OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

Investigar as concentrações de troponinas em pacientes com DM tipo 2, com e sem DAC. Relacionar estes dados com concentrações de BNP, variáveis metabólicas e de estresse oxidativo.

3 MÉTODO

3 MÉTODO

3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo caso-controle, que incluiu pacientes portadores de Doença Arterial Coronariana, pertencentes do banco de dados do projeto de pesquisa MASS - “The Medicine, Angioplasty, or Surgery Study Trial” do Instituto do Coração – Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (InCor – HCFMUSP).

3.2 RECRUTAMENTO DOS PACIENTES

Os pacientes com diabetes mellitus tipo 2 foram selecionados do ambulatório de doença arterial coronária do Instituto do Coração (InCor) - Hospital das Clínicas – Faculdade de Medicina da USP. Os pacientes encaminhados ao ambulatório para avaliação de dor torácica foram divididos em dois grupos: aqueles com cineangiocoronariografia demonstrando DAC multiarterial, com lesões ateroscleróticas causando mais de 50% de redução luminal, compuseram o grupo DAC e os pacientes com artérias angiograficamente normais por cinenangiocoronariografia ou angiotomografia de coronárias (sem lesões obstrutivas e com escore de cálcio de zero) compuseram o grupo sem DAC (ou controle). Ambos os grupos eram formados por pacientes estáveis, sem sintomas limitantes ou internação recente. Os pacientes foram pareados por idade, gênero e índice de massa corpórea. Todos os pacientes tinham função ventricular avaliada como normal, pela ventriculografia no cateterismo ou por ecocardiografia transtorácica. Os critérios

para não inclusão foram: disfunção ventricular esquerda, fibrilação atrial, tabagismo atual, insuficiência renal (níveis plasmáticos de creatinina duas vezes acima do valor de referência), hipertensão grave (baseado no critério do “Joint National Committee VI” acima de 180 x 110 mm Hg), insuficiência ou disfunção hepática (níveis plasmáticos de TGO, TGP, fosfatase alcalina ou Gama GT acima do valor de referência), cirurgia recente, hipotireoidismo ou doença musculoesquelética degenerativa. Todos os pacientes foram orientados a suspender, por um mês, o uso de estatinas. Este estudo foi aprovado pela comissão científica do Instituto do Coração – HCFMUSP, sob o número 946/94/56, pela comissão de ética para análise de projetos de pesquisa sob o número 264/94/11. Este projeto teve financiamento FAPESP – número 10/52025-9. Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os termos da declaração de Helsinque.

3.3 DIAGNÓSTICO DO DIABETES MELLITUS TIPO 2

Os critérios utilizados para o diagnóstico de DM tipo 2 foram aqueles utilizados pela Sociedade Brasileira de Diabetes ⁽³⁴⁾.

3.4 ANÁLISE LABORATORIAL

Glicemia, colesterol total e triglicérides foram determinados em amostras séricas após 12 horas de jejum, utilizando-se “kits” específicos no equipamento automático Dimension RxL (Siemens Healthcare, Newark, USA). O colesterol HDL foi mensurado utilizando-se método colorimétrico enzimático homogêneo para o equipamento Dimension RxL. O colesterol LDL foi estimado pela fórmula de

Friedewald. A hemoglobina glicada foi determinada por método imunoturbidimétrico específico para o equipamento automático RxL. Os outros marcadores utilizados tiveram suas concentrações determinadas pelos seguintes ensaios: BNP (Advia Centauro, Siemens Medical Solutions); Nitrotirosina (solid-phase enzyme linked immunosorbent assays - Hycult, Uden, Holanda); Mieloperoxidase (solid-phase enzyme linked immunosorbent assays - Hycult, Uden, Holanda); LDL oxidado (competitive enzyme-linked immunosorbent assay Mercodia, Uppsala, Suécia).

3.5 DETERMINAÇÃO DA TROPONINA I

A Troponina I foi determinada utilizando-se o “kit” ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) no equipamento automático do mesmo fabricante. O teste é um imunoensaio que utiliza tecnologia de quimioluminescência e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. De acordo com o fabricante, o limite de detecção é de 6 pg/ mL. O valor de referência para a população no percentil 99% é de 40 pg/ mL e neste percentil o coeficiente de variação é de menos de 10%.

O “kit” ADVIA Centaur[®] TnI-Ultra não é considerado como ultra-sensível. A nomenclatura mais utilizada é troponina contemporânea ou nível 1. A classificação dos novos ensaios de troponinas tem por base a porcentagem de indivíduos na população normal que tem troponina detectável: o nível 1 corresponde a menos de 50% de detecção, o nível 2: 50-75%, o nível 3: 75-95% e o nível 4: acima de 95% de detecção. A partir do nível 2, o ensaio é considerado ultra-sensível⁽⁵⁷⁾. Para este

trabalho, visando a fluência na leitura, optamos por usar o nome mais genérico troponina e não troponina contemporânea.

3.6 CÁLCULO AMOSTRAL

O cálculo amostral foi feito com base nos resultados de um estudo piloto, com uma pequena amostra inicial de pacientes que mostrou diferença entre as médias de 4 pg/ mL e desvio padrão de aproximadamente 7 pg/mL. Com base nesta amostra, o número de pacientes necessário em cada grupo foi de 49 (poder 0,8 e alfa 0,05).

3.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados utilizando-se o software MedCalc (versão 12). Mediana e intervalos interquartis foram usados para mostrar valores de troponinas e peptídeo natriurético. Variáveis categóricas foram apresentadas como valores absolutos e relativos (%). O valor de p bicaudal de menos de 0,05 foi considerado estatisticamente significativo. As características clínicas e laboratoriais dos pacientes foram examinadas nos grupos DAC e controle. As variáveis qualitativas foram testadas em relação a sua distribuição pelo método de Kolmogorov-Smirnov. O teste T de Student foi aplicado para variáveis contínuas e o chi-quadrado ou teste exato de Fischer para variáveis categóricas. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para variáveis não paramétricas. Análise multivariada foi realizada utilizando-se regressão logística. No modelo foram incluídas variáveis com $p < 0,2$ na análise univariada.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

4.1 PACIENTES ESTUDADOS

Entre janeiro de 2011 e março de 2012, 95 pacientes diabéticos foram incluídos no estudo: 50 pacientes com doença arterial coronária e os outros 45 pacientes, o grupo controle, com artérias angiograficamente normais.

4.2 CARACTERÍSTICAS BASAIS

As principais características clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo são mostradas na **Tabela 2**. Os pacientes com DAC têm maiores concentrações de colesterol total e colesterol LDL; já a glicemia sérica tem concentrações mais elevadas (mas sem diferença estatisticamente significativa) no grupo controle.

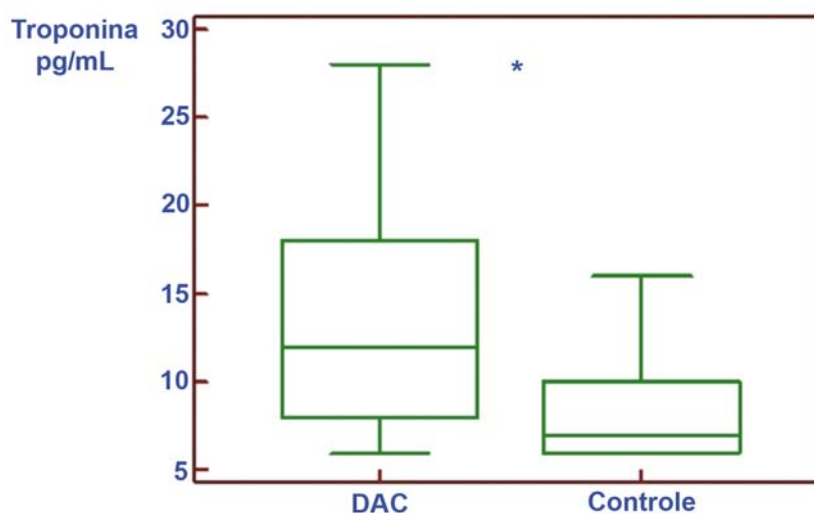
Tabela 2 - Características Clínicas e Laboratoriais

Característica*	DAC (n=50)	Controles (n=45)	P
Idade, média \pm DP, a	63,3 \pm 8,3	61,4 \pm 9,4	0,34
Feminino n (%)	20 (42)	26 (60,5)	0,07
Hipertensão n(%)	40 (83)	36 (84)	0,42
Cintura, média \pm DP (cm)	103 \pm 13	108 \pm 17	0,09
IMC, média \pm DP, Kg/m ²	30,6 \pm 6,3	32,4 \pm 6,7	0,22
Colesterol Total (mg/ dL)	216 \pm 45	193 \pm 33	0,01
Colesterol LDL (mg/dL)	142 \pm 41	124 \pm 31	0,03
Colesterol HDL (mg/dL)	37 \pm 8	39 \pm 8	0,47
Triglicérides (mg/dL)	173 \pm 75	163 \pm 70	0,55
Glicose sérica (mg/dL)	124 \pm 37	134 \pm 32	0,18
Hemoglobina A1C(mg/dL)	7,2 \pm 1,8	7,3 \pm 1,6	0,61
Uso de insulina n (%)	12 (25)	11 (26)	0,43
Tempo de diabetes, anos	9,9 \pm 9,7	7,07 \pm 6,9	0,16

*DAC indica doença arterial coronária, IMC indica índice de massa corpórea, LDL colesterol indica lipoproteína de baixa densidade, HDL colesterol indica lipoproteína de alta densidade, Hemoglobina A1C indica hemoglobina glicada.

4.3 CONCENTRAÇÕES DE TROPONINA NOS GRUPOS DAC E CONTROLE

As troponinas tiveram concentrações detectáveis em 55% dos pacientes com DAC e em 40% dos pacientes sem DAC, sendo que, em média, 47,5% dos pacientes tiveram troponinas detectáveis. Como mostrado na **figura 6**, pacientes diabéticos com DAC têm maiores concentrações de troponina em relação aos controles, respectivamente, medianas: 12,0 pg/mL (IQR: 8,0-18,0 pg/mL) versus 7,0 pg/mL (IQR: 5,9-10,0 pg/mL); $p=0,0001$. A área sob a curva ROC para o diagnóstico de DAC, mostrada na **figura 7** foi de 0,712, sendo que a concentração de troponina acima de 9,0 pg/mL conferiu sensibilidade de 70% e especificidade de 66%. Na análise multivariada realizada para avaliação de variáveis associadas a DAC, e mostrada na **tabela 3**, sexo masculino ($p=0,04$) e troponina I ($p=0,01$) tiveram significância estatística independente. A glicose sérica ($p=0,03$) teve significância estatística independente com coeficiente de correlação negativo.



Caixas (boxplot) representam os percentis 25 a 75%. Linhas dentro das caixas representam os valores de mediana. As barras representam os percentis 2,5% e 97,5%. DAC indica grupo de pacientes com doença arterial coronária, Controle indica grupo controle (sem doença arterial coronária). * $P=0,0001$

Figura 6 - Concentrações de Troponina I nos pacientes diabéticos com e sem DAC

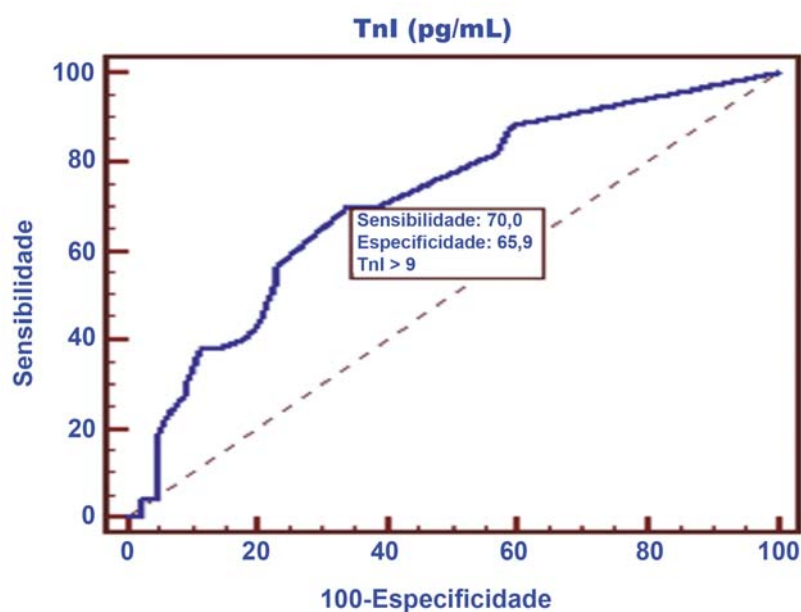


Figura 7 - Sensibilidade e especificidade da troponina na DAC

Tabela 3 - Regressão Logística multivariada para presença de DAC. Equação de Regressão

Variáveis independentes	Coefficiente	Desvio padrão	Γ_{parcial}	t	P
(Constante)	-0,04849				
Troponina I	0,02919	0,01135	0,3359	2,572	0,013
Gênero	0,2735	0,1304	0,2794	2,098	0,0408
Glicose	-0,003659	0,00173	-0,2815	-2,115	0,0392
Colesterol Total	0,004189	0,002269	0,248	1,846	0,0706
LDL colesterol	-0,00007268	0,002797	-0,003604	-0,026	0,9794
HAS	0,1209	0,1964	0,09459	0,616	0,5414
Tempo de diabetes	0,0106	0,008039	0,1799	1,319	0,193
BNP	-0,001938	0,002445	-0,1092	-0,792	0,4317
LDL Oxidado	-0,0003638	0,01383	-0,003649	-0,0263	0,9791
IMC	-0,003274	0,001245	-0,00829	0,056	0,876
Cintura	-0,002267	0,003964	-0,07906	-0,572	0,5699

4.4 BNP E VARIÁVEIS DE ESTRESSE OXIDATIVO

As concentrações de BNP e variáveis de estresse oxidativo (mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado) são mostradas na **tabela 4**. As concentrações não foram significativamente diferentes entre os dois grupos.

Tabela 4 - BNP e variáveis de estresse oxidativo

Variável	DAC	Controles	P
BNP (n=78), mediana (IQR), pg/mL	37,0 (25,3-59,3)	28,0(10,0-43,0)	0,08
Nitrotirosina (n=68), mediana (IQR), nm/mL	27,9 (23,5-31,5)	28,7 (23,0-35,5)	0,77
Mieloperoxidase (n=68), mediana (IQR), ng/mL	33,0 (20,5-54,8)	27,0 (21,0-50,0)	0,96
LDL Oxidado (n=71), mediana (IQR), mU/L	14,8 (11,0-18,7)	11,2 (9,6-15,7)	0,09

*BNP indica peptídeo natriurético tipo B, LDL Oxidado indica lipoproteína de baixa densidade na forma oxidada.

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

O principal resultado encontrado, no presente estudo, foram concentrações significativamente mais elevadas ($p=0,0001$) nos pacientes diabéticos com doença arterial coronária em relação aos diabéticos sem doença coronária. O achado é compatível com outros estudos que também mostraram elevação de troponinas em pacientes com doença arterial coronária crônica estável^(56,90,104,145). Estes estudos, porém, não foram concebidos para testar esta hipótese em pacientes diabéticos. A contribuição específica deste trabalho é a de ter confirmado a correlação da elevação de troponinas com DAC em pacientes diabéticos, com múltiplos fatores de risco associados, demonstrando que a troponina é um marcador útil na população de diabéticos. Esta não é uma conclusão imediata, porque há evidências de que o diabetes mellitus, por si só, sem complicações ou outras doenças associadas, está correlacionado com elevação de troponinas^(69,136).

Na amostra estudada, as concentrações de colesterol total e colesterol LDL foram mais elevadas nos pacientes com DAC, confirmando um achado bem estabelecido em diferentes populações⁽¹⁴⁶⁾. Os resultados da análise multivariada e da curva ROC para diagnóstico de DAC confirmaram a associação entre elevação de TnI e presença de DAC. A análise multivariada mostrou, também, correlação de gênero e glicemia (com coeficiente negativo) com a presença de DAC em pacientes diabéticos. Com relação a gênero, sexo masculino é fator de risco conhecido para DAC⁽¹⁴⁷⁾ e a correlação confirmada neste estudo era esperada. Hiperglicemia é fator de risco conhecido para DAC⁽¹⁴⁸⁾. O achado inesperado da correlação negativa entre a glicose sérica e DAC é provavelmente vinculado a um viés da amostra estudada, na

qual o grupo sem DAC tinha um controle glicêmico pior em relação ao grupo com DAC, mas sem significância estatística na análise univariada.

Dois estudos avaliaram as concentrações de troponina em relação às características basais dos pacientes, inclusive DAC. O primeiro deles com TnT mostrou correlação das concentrações de troponinas com idade, gênero e função renal, mas não com a presença de DAC. Neste estudo, porém, o número de pacientes com doença coronária era relativamente pequeno ⁽¹³⁶⁾. O segundo estudo realizado com TnI encontrou maior porcentagem de pacientes com DAC no grupo de troponina elevada em relação ao de troponina normal. Este estudo teve maior número de pacientes e maior prevalência de DAC em relação ao primeiro ⁽¹³⁹⁾. Nenhum dos estudos acima foi especificamente concebido para comparar concentrações de troponinas em diabéticos com e sem DAC. Em ambos a determinação de troponinas foi realizada após o término do estudo, em análise post-hoc.

Não se sabe se as diferenças na correlação entre troponinas e DAC devem-se a características específicas das populações estudadas ou se há diferenças qualitativas entre as troponinas I e T para correlação com DAC. Achados de metanálise sugerem que a geração de troponinas anterior tinha desempenho comparável para diagnóstico e prognóstico, na maioria das situações clínicas ⁽¹⁴⁹⁾.

As troponinas I e T de última geração parecem ter desempenho diferente conforme sua aplicação clínica: estudo com grande número de pacientes, comparando ambas as troponinas, demonstrou que a correlação entre elas foi apenas moderada. A troponina I, e não a troponina T, teve associação significativa e independente, tanto com história prévia, como com a incidência subsequente de infarto do miocárdio ⁽⁹²⁾. Em diabéticos, a correlação com infarto e doença coronária

também parece ser melhor com a troponina I⁽¹³⁹⁾ em relação à Troponina T^(69,138). De modo semelhante, com relação à isquemia transitória em teste de esforço, a troponina I⁽⁹⁶⁾, e não a troponina T⁽⁹⁷⁾, correlacionou-se com isquemia detectada. No presente estudo, também utilizamos troponina I que, novamente, mostrou boa correlação com a presença de DAC em pacientes diabéticos. Estudos com maior número de pacientes, comparando os dois tipos de troponinas, serão necessários para determinar qual a que melhor se correlaciona com a presença de DAC. Até este momento, as evidências apontam para o uso da TnI com este propósito.

A média de troponinas detectáveis de 47,5% está acima do esperado em relação a outros estudos que também utilizaram a classe de troponinas contemporâneas para análise e cujos resultados mostraram médias de 25% ou menos^(64,65). É possível que esta diferença se deva à especificidade da população estudada em relação à população geral: trata-se de população de diabéticos com múltiplos fatores de risco associados, encaminhados após triagem para ambulatório especializado. Ainda que acima do esperado, a média de detecção encontrada é compatível com o “kit” de troponina I utilizado⁽⁵⁷⁾.

Desde que este trabalho foi iniciado, novos “kits” super-sensíveis foram lançados que determinam concentrações detectáveis em mais de 90% dos indivíduos na população geral⁽⁶⁴⁾. Ainda que, em relação aos ensaios mais modernos, o “kit” de troponina I utilizado tenha sensibilidade relativamente baixa, a porcentagem de troponinas detectáveis foi alta: 40% dos diabéticos sem DAC e 55% dos diabéticos com DAC, e permitiu discriminação entre os dois grupos, com diferenças significativas entre os resultados. Não há muita informação com relação ao poder discriminativo das diferentes classes de troponinas. Um único estudo, que comparou

três diferentes classes de troponinas, mostrou que as troponinas ultra-sensíveis não trouxeram diferenças significativas para a previsão de risco de eventos cardiovasculares futuros em relação às troponinas contemporâneas, à exceção do risco de insuficiência cardíaca⁽⁶⁴⁾.

No presente estudo, considerando-se a prevalência de TnI detectável e o valor prognóstico da elevação de troponinas em diabéticos^(69,139), pode-se dizer que 40% dos diabéticos têm algum tipo de lesão no miocárdio, não aparente clinicamente, cuja fisiopatologia ainda é desconhecida. Sabe-se que a disfunção microvascular associa-se com elevação de troponinas em pacientes com insuficiência cardíaca⁽¹⁵⁰⁾ e que o DM cursa com disfunção microvascular associada à hiperglicemia⁽¹²³⁾. A hiperglicemia crônica avaliada pela hemoglobina glicada associa-se com elevação de TnI⁽¹³⁷⁾ em análise post-hoc com grande número de pacientes. Esta correlação não foi encontrada no presente estudo, provavelmente pelo pequeno número de pacientes. Ainda assim, a hiperglicemia crônica causando disfunção microvascular e elevação de troponinas é um mecanismo plausível que pode justificar a elevação de troponinas em diabéticos sem doença coronária.

O achado de concentrações de TnI elevadas nos pacientes diabéticos com DAC em relação aos sem DAC (cujas concentrações foram baixas e próximas ao limite de detecção do método) sugere que a liberação de troponinas esteja relacionada à aterosclerose em artérias epicárdicas e não a nenhum outro tipo de dano microvascular causado pelo diabetes e nem à cardiomiopatia diabética. Como se sabe, a aterosclerose coronariana, mesmo na ausência de obstrução crítica⁽⁶⁶⁾, pode cursar com elevação de troponinas através de microembolização e dano à microcirculação⁽¹⁵¹⁾.

Apesar da associação bem determinada entre marcadores de estresse oxidativo e doença arterial coronária⁽¹¹²⁾, neste estudo não houve diferença significativa nas concentrações de mieloperoxidase, nitrotirosina e LDL oxidado, entre os pacientes diabéticos com e sem DAC. A presença de diabetes, sem outras co-morbidades, associa-se a elevados níveis de estresse oxidativo⁽¹⁵²⁾ com altas concentrações de mieloperoxidase⁽¹⁵³⁾ e LDL oxidado⁽¹⁵⁴⁾. É possível que a elevação nos níveis de estresse oxidativo associada ao diabetes mellitus seja de tal magnitude, que não haja diferença detectável pela presença associada de DAC. Outro possível viés é a variação intrínseca dos marcadores de estresse oxidativo^(155,156). Além disso, é possível que o número de pacientes não tenha sido suficiente para que se encontrassem diferenças entre os grupos. Não foi encontrada, também, diferença significativa nas concentrações de BNP entre os diabéticos com e sem DAC. Porém, a acurácia do BNP para diagnóstico de isquemia é apenas moderada⁽¹⁵⁷⁾ e o número de pacientes pode não ter sido suficiente.

Com relação às aplicações clínicas dos resultados encontrados é possível que a elevação crônica de troponinas possa vir a ter um papel como marcador em prevenção primária: no rastreamento de alterações cardíacas estruturais ou doenças associadas. Utilizando-se, por exemplo, TnT ultra sensível, mais de 90% dos pacientes com insuficiência cardíaca⁽¹⁵⁸⁾ e acima de 95% dos pacientes com doença arterial coronária⁽⁵⁶⁾ têm concentrações detectáveis. Foi avaliado também o risco em determinações seriadas de troponina: nos indivíduos com TnT inicialmente detectável, o aumento de mais de 50% da concentração, numa segunda medida realizada após 2 a 3 anos, associou-se com aumento no risco de insuficiência cardíaca e morte de causa cardiovascular, enquanto a queda nas concentrações

associou-se à diminuição do risco⁽⁶³⁾. As troponinas vêm sendo consideradas como marcadores superiores à proteína C reativa e ao BNP para rastreamento de alterações cardíacas estruturais e doença coronária na população geral^(17,61,159).

As troponinas têm também potencial utilidade como marcadores na prevenção secundária. Sabe-se que, em estudos com grande número de pacientes, elevações de troponinas foram relacionadas a alterações cardíacas estruturais e mesmo na ausência de doença aguda, têm associação com mortalidade geral^(55,59), incidência de insuficiência cardíaca e mortalidade cardiovascular^(61,63). Estas correlações também foram demonstradas em pacientes com DAC^(56,92,93). Publicação recente em diabéticos com DAC demonstrou correlação da elevação de TnT com eventos cardiovasculares maiores e aumento de risco nos pacientes com mais 25% de elevação em avaliações subsequentes. Nestes pacientes foi investigado o potencial efeito da revascularização do miocárdio e não houve benefício com relação à diminuição na concentração de TnT⁽¹⁴⁰⁾.

Com relação a perspectivas futuras, é importante que se identifique e se esclareça a fisiopatologia e a dinâmica de liberação de troponinas e também a presença de fragmentos ou modificações na isquemia aguda e crônica e nas diferentes doenças associadas. Só desta maneira pode-se investigar, de modo consistente, diferentes intervenções (revascularização do miocárdio, uso de medicações específicas) e possível efeito sobre a concentração seriada de troponinas e correlação com risco a longo prazo.

O presente estudo contribui para as evidências acima, ao demonstrar que a troponina I é um marcador útil de doença coronária em pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

A elevação de troponina correlacionou-se com a presença de doença arterial coronária em pacientes diabéticos com múltiplos fatores de risco associados. A troponina é um biomarcador útil nesta população de alto risco.

7 REFERÊNCIAS

7 REFERÊNCIAS

1. Karmen A, Wroblewski F, Ladue JS. Transaminase activity in human blood. *J Clin Invest.* 1955;34(1):126-31.
2. Wroblewski F, Rueggsegger P, Ladue JS. Serum lactic dehydrogenase activity in acute transmural myocardial infarction. *Science.* 1956;123(3208):1122-3.
3. Dreyfus JC, Schapira G, Demos J. [Study of serum creatine kinase in myopathic patients and their families]. *Rev Fr Etud Clin Biol.* 1960;5:384-6.
4. Vasudevan G, Mercer DW, Varat MA. Lactic dehydrogenase isoenzyme determination in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation.* 1978;57(6):1055-7.
5. Hess JW, MacDonald RP, Natho GJ, Murdock KJ. Serum creatine phosphokinase: evaluation of a commercial spectrophotometric method. *Clin Chem.* 1967;13(11):994-1005.
6. Roe CR, Limbird LE, Wagner GS, Nerenberg ST. Combined isoenzyme analysis in the diagnosis of myocardial injury: application of electrophoretic methods for the detection and quantitation of the creatine phosphokinase MB isoenzyme. *J Lab Clin Med.* 1972;80(4):577-90.
7. Wagner GS, Roe CR, Limbird LE, Rosati RA, Wallace AG. The importance of identification of the myocardial-specific isoenzyme of creatine phosphokinase (MB form) in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Circulation.* 1973;47(2):263-9.
8. Ladenson JH. Troponin I, the story. *Clin Chem.* 2010;56(3):482-3.

9. Landt Y, Vaidya HC, Porter SE, Whalen K, McClellan A, Amyx C, et al. Semi-automated direct colorimetric measurement of creatine kinase isoenzyme MB activity after extraction from serum by use of a CK-MB-specific monoclonal antibody. *Clin Chem.* 1988;34(3):575-81.
10. Tsung JS, Tsung SS. Creatine kinase isoenzymes in extracts of various human skeletal muscles. *Clin Chem.* 1986;32(8):1568-70.
11. Tsung SH. Circulating CK-MB and CK-BB isoenzyme after gastrointestinal surgery. *J Clin Pathol.* 1982;35(2):200-3.
12. Schwartz JG, Prihoda TJ, Stuckey JH, Gage CL, Darnell ML. Creatine kinase MB in cases of skeletal muscle trauma. *Clin Chem.* 1988;34(5):898-901.
13. Jaffe AS, Garfinkel BT, Ritter CS, Sobel BE. Plasma MB creatine kinase after vigorous exercise in professional athletes. *Am J Cardiol.* 1984;53(6):856-8.
14. Rosalki SB, Roberts R, Katus HA, Giannitsis E, Ladenson JH, Apple FS. Cardiac biomarkers for detection of myocardial infarction: perspectives from past to present. *Clin Chem.* 2004;50(11):2205-13.
15. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 1987;113(6):1333-44.
16. Katus HA, Remppis A, Looser S, Hallermeier K, Scheffold T, Kubler W. Enzyme linked immuno assay of cardiac troponin T for the detection of acute myocardial infarction in patients. *J Mol Cell Cardiol.* 1989;21(12):1349-53.
17. Apple FS. High-sensitivity cardiac troponin for screening large populations of healthy people: is there risk? *Clin Chem.* 2011;57(4):537-9.

18. Hall JE, Guyton AC. Guyton and Hall textbook of medical physiology. 12th ed. Philadelphia, PA: Saunders/Elsevier; 2011.
19. Shave R, Baggish A, George K, Wood M, Scharhag J, Whyte G, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: evidence, mechanisms, and implications. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(3):169-76.
20. Parmacek MS, Solaro RJ. Biology of the troponin complex in cardiac myocytes. *Progr Cardiovasc Dis*. 2004;47(3):159-76.
21. Antman EM. Decision making with cardiac troponin tests. *N Engl J Med*. 2002;346(26):2079-82.
22. Adams JE 3rd, Bodor GS, Davila-Roman VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*. 1993;88(1):101-6.
23. Jaffe AS, Ravkilde J, Roberts R, Naslund U, Apple FS, Galvani M, et al. It's time for a change to a troponin standard. *Circulation*. 2000;102(11):1216-20.
24. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, Scheffold T, Diederich KW, Vinar G, et al. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation*. 1991;83(3):902-12.
25. Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA, Abendschein DR, Geltman EM, Ladenson JH. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1996;42(11):1770-6.
26. Eggers KM, Oldgren J, Nordenskjold A, Lindahl B. Diagnostic value of serial measurement of cardiac markers in patients with chest pain: limited value of adding myoglobin to troponin I for exclusion of myocardial infarction. *Am Heart J*. 2004;148(4):574-81.

27. Hamm CW, Ravkilde J, Gerhardt W, Jorgensen P, Peheim E, Ljungdahl L, et al. The prognostic value of serum troponin T in unstable angina. *N Engl J Med*. 1992;327(3):146-50.
28. Galvani M, Ottani F, Ferrini D, Ladenson JH, Destro A, Baccos D, et al. Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation*. 1997;95(8):2053-9.
29. Stubbs P, Collinson P, Moseley D, Greenwood T, Noble M. Prognostic significance of admission troponin T concentrations in patients with myocardial infarction. *Circulation*. 1996;94(6):1291-7.
30. Gerhardt W, Nordin G, Ljungdahl L. Can troponin T replace CK MBmass as "gold standard" for acute myocardial infarction ("AMI")? *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1999;230:83-9.
31. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol* .2000;36(3):970-1062.
32. deFilippi CR, Tocchi M, Parmar RJ, Rosanio S, Abreo G, Potter MA, et al. Cardiac troponin T in chest pain unit patients without ischemic electrocardiographic changes: angiographic correlates and long-term clinical outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(7):1827-34.
33. Henrikson CA, Howell EE, Bush DE, Miles JS, Meininger GR, Friedlander T, et al. Prognostic usefulness of marginal troponin T elevation. *The American journal of cardiology*. 2004;93(3):275-9.

34. Bonnefoy E, Godon P, Kirkorian G, Fatemi M, Chevalier P, Touboul P. Serum cardiac troponin I and ST-segment elevation in patients with acute pericarditis. *Eur Heart J*. 2000;21(10):832-6.
35. Lauer B, Niederau C, Kuhl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE, et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(5):1354-9.
36. Meyer T, Binder L, Hruska N, Luthe H, Buchwald AB. Cardiac troponin I elevation in acute pulmonary embolism is associated with right ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(5):1632-6.
37. Ammann P, Fehr T, Minder EI, Gunter C, Bertel O. Elevation of troponin I in sepsis and septic shock. *Intensive Care Med*. 2001;27(6): 965-9.
38. Missov E, Calzolari C, Pau B. Circulating cardiac troponin I in severe congestive heart failure. *Circulation*. 1997;96(9):2953-8.
39. Zellweger MJ, Schaer BA, Cron TA, Pfisterer ME, Osswald S. Elevated troponin levels in absence of coronary artery disease after supraventricular tachycardia. *Swiss Med Wkly*. 2003;133(31-32):439-41.
40. Neumayr G, Gaenzer H, Pfister R, Sturm W, Schwarzacher SP, Eibl G, et al. Plasma levels of cardiac troponin I after prolonged strenuous endurance exercise. *The Am J Cardiol*. 2001;87(3):369-71, A10.
41. James P, Ellis CJ, Whitlock RM, McNeil AR, Henley J, Anderson NE. Relation between troponin T concentration and mortality in patients presenting with an acute stroke: observational study. *BMJ*. 2000;320(7248):1502-4.
42. Frankel WL, Herold DA, Ziegler TW, Fitzgerald RL. Cardiac troponin T is elevated in asymptomatic patients with chronic renal failure. *Am J Clin Pathol*. 1996;106(1):118-23.

43. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHFTRoMI, Jaffe AS, Apple FS, et al. Universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2007;116(22):2634-53.
44. Jaffe AS, Babuin L, Apple FS. Biomarkers in acute cardiac disease: the present and the future. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48(1):1-11.
45. Kelley WE, Januzzi JL, Christenson RH. Increases of cardiac troponin in conditions other than acute coronary syndrome and heart failure. *Clin Chem*. 2009;55(12):2098-112.
46. Agzew Y. Elevated serum cardiac troponin in non-acute coronary syndrome. *Clin Cardiol*. 2009;32(1):15-20.
47. Reichlin T, Hochholzer W, Bassetti S, Steuer S, Stelzig C, Hartwiger S, et al. Early diagnosis of myocardial infarction with sensitive cardiac troponin assays. *N Engl J Med*. 2009;361(9):858-67.
48. Panteghini M, Pagani F, Yeo KT, Apple FS, Christenson RH, Dati F, et al. Evaluation of imprecision for cardiac troponin assays at low-range concentrations. *Clin Chem*. 2004;50(2):327-32.
49. Apple FS, Collinson PO, Biomarkers ITFoCAoC. Analytical characteristics of high-sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012;58(1):54-61.
50. Giannitsis E, Kurz K, Hallermayer K, Jarausch J, Jaffe AS, Katus HA. Analytical validation of a high-sensitivity cardiac troponin T assay. *Clin Chem*. 2010;56(2):254-61
51. Morrow DA, Antman EM. Evaluation of high-sensitivity assays for cardiac troponin. *Clin Chem*. 2009;55(1):5-8.

-
52. Mahajan VS, Jarolim P. How to interpret elevated cardiac troponin levels. *Circulation*. 2011;124(21):2350-4.
53. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation*. 2012;126(16):2020-35.
54. Wallace TW, Abdullah SM, Drazner MH, Das SR, Khera A, McGuire DK, et al. Prevalence and determinants of troponin T elevation in the general population. *Circulation*. 2006;113(16):1958-65.
55. de Lemos JA, Drazner MH, Omland T, Ayers CR, Khera A, Rohatgi A, et al. Association of troponin T detected with a highly sensitive assay and cardiac structure and mortality risk in the general population. *JAMA*. 2010;304(22):2503-12.
56. Omland T, de Lemos JA, Sabatine MS, Christophi CA, Rice MM, Jablonski KA, et al. A sensitive cardiac troponin T assay in stable coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2009;361(26):2538-47.
57. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem*. 2009;55(7):1303-6.
58. Wang TJ, Wollert KC, Larson MG, Coglianese E, McCabe EL, Cheng S, et al. Prognostic utility of novel biomarkers of cardiovascular stress: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2012;126(13):1596-604.
59. Eggers KM, Al-Shakarchi J, Berglund L, Lindahl B, Siegbahn A, Wallentin L, et al. High-sensitive cardiac troponin T and its relations to cardiovascular risk factors, morbidity, and mortality in elderly men. *Am Heart J*. 2013;166(3):541-8.
60. Oluleye OW, Folsom AR, Nambi V, Lutsey PL, Ballantyne CM, Investigators AS. Troponin T, B-type natriuretic peptide, C-reactive protein, and cause-specific mortality. *Ann Epidemiol*. 2013;23(2):66-73.

-
61. Saunders JT, Nambi V, de Lemos JA, Chambless LE, Virani SS, Boerwinkle E, et al. Cardiac troponin T measured by a highly sensitive assay predicts coronary heart disease, heart failure, and mortality in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circulation*. 2011;123(13):1367-76.
62. Everett BM, Zeller T, Glynn RJ, Ridker PM, Blankenberg S. High-sensitivity cardiac troponin I and B-type natriuretic Peptide as predictors of vascular events in primary prevention: impact of statin therapy. *Circulation*. 2015;131(21):1851-60.
63. deFilippi CR, de Lemos JA, Christenson RH, Gottdiener JS, Kop WJ, Zhan M, et al. Association of serial measures of cardiac troponin T using a sensitive assay with incident heart failure and cardiovascular mortality in older adults. *JAMA*. 2010;304(22):2494-502.
64. Neumann JT, Havulinna AS, Zeller T, Appelbaum S, Kunnas T, Nikkari S, et al. Comparison of three troponins as predictors of future cardiovascular events--prospective results from the FINRISK and BiomaCaRE studies. *PloS One*. 2014;9(3):e90063.
65. Zeller T, Tunstall-Pedoe H, Saarela O, Ojeda F, Schnabel RB, Tuovinen T, et al. High population prevalence of cardiac troponin I measured by a high-sensitivity assay and cardiovascular risk estimation: the MORGAM Biomarker Project Scottish Cohort. *Eur Heart J*. 2014;35(5):271-81.
66. Tang WH, Wu Y, Nicholls SJ, Brennan DM, Pepoy M, Mann S, et al. Subclinical myocardial necrosis and cardiovascular risk in stable patients undergoing elective cardiac evaluation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010;30(3):634-40.
67. Daniels LB, Laughlin GA, Clopton P, Maisel AS, Barrett-Connor E. Minimally elevated cardiac troponin T and elevated N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in older adults: results from the Rancho Bernardo Study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52(6):450-9.

-
68. Kavsak PA, Xu L, Yusuf S, McQueen MJ. High-sensitivity cardiac troponin I measurement for risk stratification in a stable high-risk population. *Clin Chem.* 2011;57(8):1146-53.
69. Everett BM, Cook NR, Magnone MC, Bobadilla M, Kim E, Rifai N, et al. Sensitive cardiac troponin T assay and the risk of incident cardiovascular disease in women with and without diabetes mellitus: the Women's Health Study. *Circulation.* 2011;123(24):2811-8.
70. White HD. Pathobiology of troponin elevations: do elevations occur with myocardial ischemia as well as necrosis? *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(24):2406-8.
71. Hessel MH, Atsma DE, van der Valk EJ, Bax WH, Schalij MJ, van der Laarse A. Release of cardiac troponin I from viable cardiomyocytes is mediated by integrin stimulation. *Pflugers Archiv : Eur Heart J.* 2008;455(6):979-86.
72. Hamm CW, Giannitsis E, Katus HA. Cardiac troponin elevations in patients without acute coronary syndrome. *Circulation.* 2002;106(23):2871-2.
73. Kociol RD, Pang PS, Gheorghiade M, Fonarow GC, O'Connor CM, Felker GM. Troponin elevation in heart failure prevalence, mechanisms, and clinical implications. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(14):1071-8.
74. Gao WD, Liu Y, Mellgren R, Marban E. Intrinsic myofilament alterations underlying the decreased contractility of stunned myocardium. A consequence of Ca²⁺-dependent proteolysis? *Circulation Res.* 1996;78(3):455-65.
75. Gao WD, Atar D, Liu Y, Perez NG, Murphy AM, Marban E. Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circulation Res.* 1997;80(3):393-9.

-
76. McDonough JL, Arrell DK, Van Eyk JE. Troponin I degradation and covalent complex formation accompanies myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation Res.* 1999;84(1):9-20.
77. Narula J, Haider N, Virmani R, DiSalvo TG, Kolodgie FD, Hajjar RJ, et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med.* 1996;335(16):1182-9.
78. 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;67(16):1360-7.
79. Bleier J, Vorderwinkler KP, Falkensammer J, Mair P, Dapunt O, Puschendorf B, et al. Different intracellular compartmentations of cardiac troponins and myosin heavy chains: a causal connection to their different early release after myocardial damage. *Clin Chem.* 1998;44(9):1912-8.
80. Adams JE, 3rd, Abendschein DR, Jaffe AS. Biochemical markers of myocardial injury. Is MB creatine kinase the choice for the 1990s? *Circulation.* 1993;88(2):750-63.
81. Muller-Bardorff M, Weidtmann B, Giannitsis E, Kurowski V, Katus HA. Release kinetics of cardiac troponin T in survivors of confirmed severe pulmonary embolism. *Clin Chem.* 2002;48(4):673-5.
82. Mousavi N, Czarnecki A, Kumar K, Fallah-Rad N, Lytwyn M, Han SY, et al. Relation of biomarkers and cardiac magnetic resonance imaging after marathon running. *Am J Cardiol.* 2009;103(10):1467-72.

83. Turer AT, Addo TA, Martin JL, Sabatine MS, Lewis GD, Gerszten RE, et al. Myocardial ischemia induced by rapid atrial pacing causes troponin T release detectable by a highly sensitive assay: insights from a coronary sinus sampling study. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(24):2398-405.
84. Feng J, Schaus BJ, Fallavollita JA, Lee TC, Canty JM, Jr. Preload induces troponin I degradation independently of myocardial ischemia. *Circulation*. 2001;103(16):2035-7.
85. Zhang Z, Biesiadecki BJ, Jin JP. Selective deletion of the NH₂-terminal variable region of cardiac troponin T in ischemia reperfusion by myofibril-associated mu-calpain cleavage. *Biochemistry*. 2006;45(38):11681-94.
86. Ruetten H, Badorff C, Ihling C, Zeiher AM, Dimmeler S. Inhibition of caspase-3 improves contractile recovery of stunned myocardium, independent of apoptosis-inhibitory effects. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38(7):2063-70.
87. Chandrashekar Y, Sen S, Anway R, Shuros A, Anand I. Long-term caspase inhibition ameliorates apoptosis, reduces myocardial troponin-I cleavage, protects left ventricular function, and attenuates remodeling in rats with myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(2):295-301.
88. Sheng JJ, Jin JP. Gene regulation, alternative splicing, and posttranslational modification of troponin subunits in cardiac development and adaptation: a focused review. *Front Physiol*. 2014;5:165.
89. Zhang Z, Feng HZ, Jin JP. Structure of the NH₂-terminal variable region of cardiac troponin T determines its sensitivity to restrictive cleavage in pathophysiological adaptation. *Arch Biochem Biophys*. 2011;515(1-2):37-45.

-
90. Laufer EM, Mingels AM, Winkens MH, Joosen IA, Schellings MW, Leiner T, et al. The extent of coronary atherosclerosis is associated with increasing circulating levels of high sensitive cardiac troponin T. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30(6):1269-75.
91. Yamazaki K, Iijima R, Nakamura M, Sugi K. High-sensitivity cardiac troponin T level is associated with angiographic complexity of coronary artery disease: a cross-sectional study. *Heart Vessels.* 2015;May 12.[Epub ahead of print]
92. Omland T, Pfeffer MA, Solomon SD, de Lemos JA, Rosjo H, Saltyte Benth J, et al. Prognostic value of cardiac troponin I measured with a highly sensitive assay in patients with stable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(12):1240-9.
93. Giannitsis E, Spanuth E, Horsch A, Kleber ME, Koch W, Grammer TB, et al. High-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide predict mortality in stable coronary artery disease: results from the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chem Lab Med.* 2013; 51(10):2019-28.
94. Gitsioudis G, Schussler A, Nagy E, Maurovich-Horvat P, Buss SJ, Voss A, et al. Combined assessment of high-sensitivity troponin T and noninvasive coronary plaque composition for the prediction of cardiac outcomes. *Radiology.* 2015; 276(1):73-81.
95. Landesberg G, Vesselov Y, Einav S, Goodman S, Sprung CL, Weissman C. Myocardial ischemia, cardiac troponin, and long-term survival of high-cardiac risk critically ill intensive care unit patients. *Crit Care Med.* 2005;33(6):1281-7.
96. Sabatine MS, Morrow DA, de Lemos JA, Jarolim P, Braunwald E. Detection of acute changes in circulating troponin in the setting of transient stress test-induced myocardial ischaemia using an ultrasensitive assay: results from TIMI 35. *Eur Heart J.* 2009;30(2):162-9.

-
97. Kurz K, Giannitsis E, Zehelein J, Katus HA. Highly sensitive cardiac troponin T values remain constant after brief exercise- or pharmacologic-induced reversible myocardial ischemia. *Clin Chem*. 2008;54(7):1234-8.
98. Roysland R, Kravdal G, Hoiseith AD, Nygard S, Badr P, Hagve TA, et al. Cardiac troponin T levels and exercise stress testing in patients with suspected coronary artery disease: the Akershus Cardiac Examination (ACE) 1 study. *Clin Sci (Lond)*. 2012;122(12):599-606.
99. Saadeddin SM, Habbab MA. Percutaneous coronary intervention in the context of systemic inflammation: more injury and worse outcome. *Med Sci Monit*. 2003;9(8):RA193-7.
100. Heusch G, Kleinbongard P, Bose D, Levkau B, Haude M, Schulz R, et al. Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside. *Circulation*. 2009;120(18):1822-36.
101. Heusch G, Schulz R, Haude M, Erbel R. Coronary microembolization. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;37(1):23-31.
102. Braunwald E. Coronary plaque erosion: recognition and management. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2013;6(3):288-9.
103. Libby P. Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy. *N Engl J Med*. 2013;368(21):2004-13.
104. Korosoglou G, Lehrke S, Mueller D, Hosch W, Kauczor HU, Humpert PM, et al. Determinants of troponin release in patients with stable coronary artery disease: insights from CT angiography characteristics of atherosclerotic plaque. *Heart*. 2011;97(10):823-31.

-
105. Lee T, Murai T, Yonetsu T, Suzuki A, Hishikari K, Kanaji Y, et al. Relationship between subclinical cardiac troponin I elevation and culprit lesion characteristics assessed by optical coherence tomography in patients undergoing elective percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv.* 2015;8(4).
106. Segre C, Junior ANA, Nomura C, Villa A, Strunz C, Rezende P, et al. High sensitivity cardiac troponin I changes related with mapping in patients with chronic ischaemic heart disease without late enhancement gadolinium by CRM. *J Am Coll Cardiol.* 2015;65(10_S).
107. Remppis A, Scheffold T, Greten J, Haass M, Greten T, Kubler W, et al. Intracellular compartmentation of troponin T: release kinetics after global ischemia and calcium paradox in the isolated perfused rat heart. *J Mol Cell Cardiol.* 1995;27(2):793-803.
108. Communal C, Sumandea M, de Tombe P, Narula J, Solaro RJ, Hajjar RJ. Functional consequences of caspase activation in cardiac myocytes. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2002;99(9):6252-6.
109. Labugger R, Organ L, Collier C, Atar D, Van Eyk JE. Extensive troponin I and T modification detected in serum from patients with acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000;102(11):1221-6.
110. Li H, Horke S, Forstermann U. Vascular oxidative stress, nitric oxide and atherosclerosis. *Atherosclerosis.* 2014;237(1):208-19.
111. Singh U, Jialal I. Oxidative stress and atherosclerosis. *Pathophysiology.* 2006;13(3):129-42.
112. Ho E, Karimi Galoughi K, Liu CC, Bhindi R, Figtree GA. Biological markers of oxidative stress: Applications to cardiovascular research and practice. *Redox Biol.* 2013;1:483-91.

-
113. Zhang R, Brennan ML, Fu X, Aviles RJ, Pearce GL, Penn MS, et al. Association between myeloperoxidase levels and risk of coronary artery disease. *JAMA* . 2001;286(17):2136-42.
114. Heslop CL, Frohlich JJ, Hill JS. Myeloperoxidase and C-reactive protein have combined utility for long-term prediction of cardiovascular mortality after coronary angiography. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(11):1102-9.
115. Scharnagl H, Kleber ME, Genser B, Kickmaier S, Renner W, Weihrauch G, et al. Association of myeloperoxidase with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography--the LURIC study. *Int J Cardiol*. 2014;174(1):96-105.
116. Shishehbor MH, Aviles RJ, Brennan ML, Fu X, Goormastic M, Pearce GL, et al. Association of nitrotyrosine levels with cardiovascular disease and modulation by statin therapy. *JAMA*. 2003;289(13):1675-80.
117. Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, et al. Circulating oxidized low density lipoprotein levels. A biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler ThrombVasc Biol*. 2000;20(10):2243-7.
118. Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(5):844-8.
119. Kim BS, Lee HJ, Shin HS, Yoon JH, Lee HY, Kim BJ, et al. Presence and severity of coronary artery disease and changes in B-type natriuretic peptide levels in patients with a normal systolic function. *Translational research: J Lab Clin Med*. 2006;148(4):188-95.
120. Weber M, Dill T, Arnold R, Rau M, Ekinici O, Muller KD, et al. N-terminal B-type natriuretic peptide predicts extent of coronary artery disease and ischemia in patients with stable angina pectoris. *Am Heart J*. 2004;148(4):612-20.

-
121. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241(19):2035-8.
122. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414(6865):782-7.
123. Laakso M. Heart in diabetes: a microvascular disease. *Diabetes care*. 2011;34(Suppl 2):S145-9.
124. Brownlee M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes*. 2005;54(6):1615-25.
125. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-20.
126. Giacco F, Brownlee M. Oxidative stress and diabetic complications. *Circ Res*. 2010;107(9):1058-70.
127. Vazzana N, Ranalli P, Cuccurullo C, Davi G. Diabetes mellitus and thrombosis. *Thromb Res*. 2012;129(3):371-7.
128. Makimattila S, Virkamaki A, Groop PH, Cockcroft J, Utriainen T, Fagerudd J, et al. Chronic hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1996;94(6):1276-82.
129. Eckel RH, Wassef M, Chait A, Sobel B, Barrett E, King G, et al. Prevention Conference VI: Diabetes and Cardiovascular Disease: Writing Group II: pathogenesis of atherosclerosis in diabetes. *Circulation*. 2002;105(18):e138-43.
130. Modesti A, Bertolozzi I, Gamberi T, Marchetta M, Lumachi C, Coppo M, et al. Hyperglycemia activates JAK2 signaling pathway in human failing myocytes via angiotensin II-mediated oxidative stress. *Diabetes*. 2005;54(2):394-401.

-
131. Di Carli MF, Janisse J, Grunberger G, Ager J. Role of chronic hyperglycemia in the pathogenesis of coronary microvascular dysfunction in diabetes. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41(8):1387-93.
132. Warda M, Kim HK, Kim N, Youm JB, Kang SH, Park WS, et al. Simulated hyperglycemia in rat cardiomyocytes: a proteomics approach for improved analysis of cellular alterations. *Proteomics.* 2007;7(15):2570-90.
133. Kobayashi S, Mao K, Zheng H, Wang X, Patterson C, O'Connell TD, et al. Diminished GATA4 protein levels contribute to hyperglycemia-induced cardiomyocyte injury. *J Biol Chem.* 2007;282(30):21945-52.
134. Boudina S, Abel ED. Diabetic cardiomyopathy revisited. *Circulation.* 2007;115(25):3213-23.
135. Voulgari C, Papadogiannis D, Tentolouris N. Diabetic cardiomyopathy: from the pathophysiology of the cardiac myocytes to current diagnosis and management strategies. *Vasc Health Risk Manag.* 2010;6:883-903.
136. Hallen J, Johansen OE, Birkeland KI, Gullestad L, Aakhus S, Endresen K, et al. Determinants and prognostic implications of cardiac troponin T measured by a sensitive assay in type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol.* 2010;9:52.
137. Rubin J, Matsushita K, Ballantyne CM, Hoogeveen R, Coresh J, Selvin E. Chronic hyperglycemia and subclinical myocardial injury. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(5):484-9.
138. Hillis GS, Welsh P, Chalmers J, Perkovic V, Chow CK, Li Q, et al. The relative and combined ability of high-sensitivity cardiac troponin T and N-terminal pro-B-type natriuretic Peptide to predict cardiovascular events and death in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care.* 2014;37(1):295-303.

-
139. Yiu KH, Lau KK, Zhao CT, Chan YH, Chen Y, Zhen Z, et al. Predictive value of high-sensitivity troponin-I for future adverse cardiovascular outcome in stable patients with type 2 diabetes mellitus. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13:63.
140. Everett BM, Brooks MM, Vlachos HE, Chaitman BR, Frye RL, Bhatt DL, et al. Troponin and Cardiac Events in Stable Ischemic Heart Disease and Diabetes. *N Engl J Med*. 2015;373(7):610-20.
141. Epshteyn V, Morrison K, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Clopton P, Mudaliar S, et al. Utility of B-type natriuretic peptide (BNP) as a screen for left ventricular dysfunction in patients with diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(7):2081-7.
142. Rana BS, Davies JI, Band MM, Pringle SD, Morris A, Struthers AD. B-type natriuretic peptide can detect silent myocardial ischaemia in asymptomatic type 2 diabetes. *Heart*. 2006;92(7):916-20.
143. Bhalla MA, Chiang A, Epshteyn VA, Kazanegra R, Bhalla V, Clopton P, et al. Prognostic role of B-type natriuretic peptide levels in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(5):1047-52.
144. Tang WH, Iqbal N, Wu Y, Hazen SL. Usefulness of cardiac biomarker score for risk stratification in stable patients undergoing elective cardiac evaluation across glycemic status. *Am J Cardiol*. 2013;111(4):465-70.
145. Axelsson A, Ruwald MH, Dalsgaard M, Rossing K, Steffensen R, Iversen K. Serial measurements of high-sensitivity cardiac troponin T after exercise stress test in stable coronary artery disease. *Biomarkers*. 2013;18(4):304-9.
146. Castelli WP, Doyle JT, Gordon T, Hames CG, Hjortland MC, Hulley SB, et al. HDL cholesterol and other lipids in coronary heart disease. The cooperative lipoprotein phenotyping study. *Circulation*. 1977;55(5):767-72.

147. Jousilahti P, Vartiainen E, Tuomilehto J, Puska P. Sex, age, cardiovascular risk factors, and coronary heart disease: a prospective follow-up study of 14 786 middle-aged men and women in Finland. *Circulation*. 1999;99(9):1165-72.
148. Ostrander LD, Jr., Lamphiear DE, Carman WJ, Williams GW. Blood glucose and risk of coronary heart disease. *Arteriosclerosis*. 1981;1(1):33-7.
149. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur Heart J*. 2010;31(18):2197-204.
150. Takashio S, Yamamuro M, Izumiya Y, Sugiyama S, Kojima S, Yamamoto E, et al. Coronary microvascular dysfunction and diastolic load correlate with cardiac troponin T release measured by a highly sensitive assay in patients with nonischemic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(7):632-40.
151. Brener SJ, Topol EJ. Troponin, embolization and restoration of microvascular integrity. *Eur Heart J*. 2000;21(14):1117-9.
152. Yang H, Jin X, Kei Lam CW, Yan SK. Oxidative stress and diabetes mellitus. *Clin Chem Lab Med*. 2011;49(11):1773-82.
153. Wiersma JJ, Meuwese MC, van Miert JN, Kastelein A, Tijssen JG, Piek JJ, et al. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. *Med Sci Monit*. 2008;14(8):CR406-10.
154. Nakhjavani M, Khalilzadeh O, Khajeali L, Esteghamati A, Morteza A, Jamali A, et al. Serum oxidized-LDL is associated with diabetes duration independent of maintaining optimized levels of LDL-cholesterol. *Lipids*. 2010;45(4):321-7.
155. Mullins AL, van Rosendal SP, Briskey DR, Fassett RG, Wilson GR, Coombes JS. Variability in oxidative stress biomarkers following a maximal exercise test. *Biomarkers*. 2013;18(5):446-54.

156. Dahwa R, Fassett RG, Wang Z, Briskey D, Mallard AR, Coombes JS. Variability of oxidative stress biomarkers in hemodialysis patients. *Biomarkers*. 2014;19(2):154-8.
157. Mueller C. The use of B-type natriuretic peptides in coronary artery disease: utile or futile? *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(3):215-6.
158. Latini R, Masson S, Anand IS, Missov E, Carlson M, Vago T, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation*. 2007;116(11):1242-9.
159. Sherwood MW, Kristin Newby L. High-sensitivity troponin assays: evidence, indications, and reasonable use. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1):e000403.