

CAPÍTULO 2

EVOLUÇÃO DOS BIOMARCADORES CARDÍACOS: DIAGNÓSTICO E PROGNÓSTICO APRIMORADOS

Andrezza Quirino Ramalho de Moura

RESUMO

A identificação e utilização de biomarcadores cardíacos evoluíram significativamente nas últimas décadas, desempenhando um papel crucial no diagnóstico, prognóstico e monitoramento de doenças cardiovasculares. Inicialmente, enzimas como a creatina quinase MB (CK-MB) foram amplamente utilizadas para detectar lesão miocárdica, mas sua especificidade limitada impulsionou a busca por marcadores mais precisos. O advento da troponina cardíaca (cTn) revolucionou a cardiologia ao permitir a detecção precoce de lesões miocárdicas, sendo hoje o padrão-ouro no diagnóstico de infarto agudo do miocárdio (IAM). Paralelamente, biomarcadores inflamatórios, como a proteína C-reativa de alta sensibilidade (hs-CRP), demonstraram correlação com o risco cardiovascular, expandindo as possibilidades de estratificação de risco. Recentemente, moléculas como a ST2 e o fator de diferenciação de crescimento-15 (GDF-15) emergiram como preditores robustos de insuficiência cardíaca e mortalidade cardiovascular. Da mesma forma, metaloproteinases de matriz (MMPs) e seus inibidores têm sido investigados devido ao seu papel na remodelação vascular e na progressão da aterosclerose. Além disso, biomarcadores como endocan e galectinas vêm sendo explorados por sua associação com disfunção endotelial e inflamação. O avanço das técnicas ômicas, incluindo transcriptômica e proteômica, tem permitido a descoberta de novos biomarcadores, como microRNAs, que apresentam potencial diagnóstico e terapêutico. Esses avanços indicam uma tendência para a medicina personalizada, na qual perfis individuais de biomarcadores poderão guiar condutas terapêuticas mais eficazes. Com o contínuo desenvolvimento de tecnologias de alta sensibilidade e especificidade, espera-se que os biomarcadores cardíacos se tornem ainda mais precisos, permitindo intervenções precoces e reduzindo a morbimortalidade cardiovascular.

Palavras-chave: Biomarcadores. Doenças cardiovasculares. Troponina. Metaloproteinases da matriz. MicroRNAs. Exossomos.

1. INTRODUÇÃO

Geralmente, biomarcadores são definidos como uma característica objetivamente medida e avaliada para auxiliar a compreensão de um ou mais dos seguintes aspectos: previsão da doença, sua causa, seu diagnóstico e a resposta à intervenção. Sob esta definição, até mesmo parâmetros comuns, como pressão arterial e frequência cardíaca, podem ser consideradas biomarcadores. Porém, a concepção atual é mais associada à bioquímica clínica¹. Em relação aos biomarcadores cardíacos, historicamente o primeiro registro remete a uma observação feita em 1954, que detalhava um aumento na concentração de aspartato aminotransferase no sangue 3 a 4 horas após um infarto agudo do miocárdio (IAM). No ano seguinte, um aumento semelhante na atividade da lactato desidrogenase sérica também foi relatado após o IAM².

Posteriormente, a creatina quinase (CK) foi considerada muito mais sensível do que a aspartato aminotransferase ou a lactato desidrogenase, com sensibilidade $\leq 98\%$ em 72 horas³. Encontradas no músculo esquelético e cardíaco, essas enzimas, no entanto, podem levar a muitos falsos positivos, um problema parcialmente superado pela banda CK-miocárdica (MB), uma isoenzima de CK, que, apesar de também estar presente no músculo esquelético, concentra uma proporção muito maior no miocárdio. A separação de isoformas séricas de isoenzimas de CK com o uso de eletroforese em gel de poliacrilamida, identificando assim o MB de CK, foi descrita pela primeira vez em 1972 e anunciou a ubiquidade de utilização durante a década de 1980⁴.

A medição de peptídeos e proteínas em fluidos biológicos foi aprimorada com o desenvolvimento do radioimunoensaio por Berson & Yallow, no final da década de 1960, que permitiu uma medição precisa e exata de pequenas quantidades de proteínas, evidentes pela medição bem-sucedida da mioglobina em 1978⁵. Preocupações com a complexidade experimental e o uso de radiação, no entanto, levaram à substituição do radiomarcador por marcadores enzimáticos no imunoensaio ELISA, que mediu, pela primeira vez, a massa de CK-MB, substituindo o método eletroforético^{6,7}. Em 1985, o grupo de estudo Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) relatou que pacientes com IAM foram altamente beneficiados ao receberem trombólise dentro de 4 a 6 horas de dor no peito. Isso fez com que um marcador bioquímico precoce de IAM se tornasse essencial para o diagnóstico de lesão miocárdica, ajudando a promover o desenvolvimento do ensaio de troponina (Tn)⁸.

2. DOENÇAS CARDIOVASCULARES E BIOMARCADORES

As doenças cardiovasculares (DCV) são a principal causa de morte em todo o mundo, incluindo doenças cardíacas coronárias e isquêmicas, insuficiência cardíaca congestiva, doenças arteriais periféricas, trombose venosa profunda ou arterial, embolia pulmonar (EP) e doenças cerebrovasculares⁹. Quando detectadas precocemente, muitas DCVs podem

ser prevenidas com a reversão de fatores de risco modificáveis relevantes, como tabagismo, inatividade física, obesidade, diabetes, hipertensão e distúrbios lipídicos. Por isso, é importante ter ferramentas eficazes para triagem, diagnóstico e prognóstico. É nesse caso que os biomarcadores são cada vez mais reconhecidos por desempenharem um papel fundamental. Aronson et al., por exemplo, definiram um biomarcador como uma observação biológica que substitui e idealmente prevê um desfecho clinicamente relevante ou resultado intermediário que é mais difícil de observar¹⁰.

O National Institute of Health Consortium, por sua vez, define os biomarcadores como uma característica que é objetivamente medida e avaliada como um indicador de processos biológicos normais, processos patogênicos ou respostas farmacológicas a uma intervenção terapêutica, conforme mencionado por Strimbu & Tavel¹. Mudanças nos biomarcadores, portanto, indicam condições fisiológicas ou patológicas e podem refletir respostas à terapia. Esta definição de amplo escopo de biomarcadores abrange medições de proteínas, metabólitos e fatores genéticos¹⁰. Em uma visão mais ampla, os procedimentos de imagem usados para identificar e avaliar funções biológicas anormais também são considerados biomarcadores¹¹.

Em 2009, a American Heart Association (AHA) propôs uma estrutura padronizada de avaliação e definiu critérios para a recomendação do uso clínico de novos marcadores de risco cardiovascular. Dependendo de sua função, os biomarcadores se enquadram em três classificações principais – biomarcadores de triagem, diagnóstico e prognóstico – e podem ter valor crítico para avaliar riscos associados a vários fatores relacionados à saúde ou doença. Esses fatores podem ser a suscetibilidade a características genéticas ou fatores ambientais, marcadores em pontos ao longo do desenvolvimento da doença e/ou progressão, bem como endpoints subclínicos ou clínicos ou substitutos usados na avaliação da segurança e eficácia de opções terapêuticas¹².

3. BIOMARCADORES DE LESÃO MIOCÁRDICA

3.1 Troponinas

As troponinas cardíacas (cTn), ou o complexo de troponina, são compostas por três proteínas reguladoras: troponina I (cTnI), troponina T (cTnT) e troponina C (cTnC) que, integradas aos filamentos finos do músculo cardíaco (proteína actina), desempenham um papel relevante na regulação da atividade do músculo cardíaco, incluindo as concentrações de cálcio intracelular durante todo o processo de contração/relaxamento. A TnC é expressa nos miócitos cardíacos e esqueléticos lentos, enquanto as isoformas cardíacas de TnI e TnT correspondem exclusivamente ao coração. A proporção de ambas as isoformas aumenta durante o desenvolvimento fetal humano até serem expressas exclusivamente no coração no nono mês após

o nascimento. Assim, tanto TnI quanto TnT são indicados para investigar patologias cardíacas³⁷.

Atualmente, a avaliação dos níveis séricos de TnT e TnI – as troponinas altamente específicas de comprometimento do miócito cardíaco – é um dos biomarcadores mais importantes no diagnóstico precoce de infarto do miocárdio (IM) associado à remodelação dos vasos coronários e ventriculares¹⁵. Em 2018, uma declaração de consenso da European Society of Cardiology (ESC), do American College of Cardiology Foundation (ACCF), da American Heart Foundation (AHA) e da World Heart Federation (WHF) definiu o IM como um aumento e/ou queda na cTn com pelo menos um valor acima do limite de referência superior do 99º percentil no contexto de sintomas ou evidências clínicas de isquemia miocárdica¹⁶.

Diferentes métodos podem ser usados para medir as concentrações plasmáticas de troponinas, incluindo os de alta e padrão sensibilidade. O consenso ESC/ACCF/AHA/WHF recomenda a detecção de métodos de troponina de alta sensibilidade (hs) no percentil 99 de uma população de referência aparentemente saudável com variabilidade inferior a 10%. Essa abordagem permite a detecção mais precoce e o aumento do diagnóstico de IM, assim como uma redução de casos com angina instável, melhor estratificação de risco, melhor gerenciamento de medicamentos e seleção de estratégia invasiva precoce versus invasiva seletiva para pacientes com síndrome coronária aguda (SCA)¹⁷.

No entanto, o consenso ESC/ACCF/AHA/WHF não fornece recomendações para o uso do valor do percentil 99 para avaliação de risco – que é uma questão separada –, mas sim do hs-Tn. A interpretação dos níveis de cTn, no entanto, exige uma avaliação clínica criteriosa em emergências como potencial de IM agudo, pois os níveis de cTn podem ser identificados em populações aparentemente saudáveis, especialmente quando medidos por métodos de alta sensibilidade¹⁸. Gatilhos de vazamento de cTn não relacionados à necrose irreversível dos cardiomiócitos podem incluir troponina elevada após atividade física prolongada, IM induzível e episódios prolongados de taquiarritmia, mesmo em indivíduos considerados saudáveis. Porém, ainda não está claro se a elevação das troponinas nessas condições é semelhante às células com ruptura da membrana após a morte celular do miocárdio. Também não se sabe se um desequilíbrio entre a demanda e o suprimento de oxigênio em pacientes com doença cardíaca subclínica medeia a secreção de troponina em indivíduos aparentemente saudáveis^{19,20}.

No geral, a cTn tem uma meia-vida plasmática curta de cerca de 2 horas após a liberação do miocárdio lesionado. É importante notar que a cTnT liberada após o IM exibe uma cinética discreta com dois picos, que começa a aumentar de 3 a 4 horas após a lesão e se eleva lentamente para um segundo pico mais baixo durante vários dias, até 2 semanas após o início da lesão²¹. A cTnI é liberada mais rapidamente, dentro de 1 a 2 horas do IM²². O padrão de secreção de cTn contribui com o diagnóstico e prognóstico do IM. Pacientes com grande IM reperfundido, por exemplo, apresentam um padrão

clássico de liberação de tempo bifásico de cTnT, enquanto o padrão de liberação de cTnT é diferente em IM não reperfundido, assim como em pequenos IMs. É relatado que a detecção do pico inicial pode ajudar a avaliar o estado da reperfusão microvascular, enquanto os níveis de cTn circulante no terceiro ou quarto dia representam o tamanho do IM^{21,23}.

Além disso, as cTn são liberadas na circulação sistêmica em resposta à lesão do miócito cardíaco, como na necrose/isquemia miocárdica, estresse da parede miocárdica resultante do aumento das pressões de enchimento do ventrículo esquerdo (VE), aumento de citocinas inflamatórias, estresse oxidativo ou catecolamina e destruição celular direta²¹. Com isso, as troponinas conquistaram destaque como biomarcadores de múltiplas DCVs além do IM. Nesse caso, a cardiomiopatia de Takotsubo (TC), que causa extensa disfunção aguda do movimento da parede regional e não pode ser diagnosticada com base apenas no eletrocardiograma (ECG), resulta em um aumento modesto nos níveis de cTn, com o pico ocorrendo em 24 h e um declínio mais rápido nos níveis do que o observado na SCA. A elevação nos níveis de cTn, no entanto, não reflete a disfunção característica da TC²⁴.

Portanto, a liberação de cTn na TC parece não estar relacionada à necrose isquêmica dos cardiomiócitos, o que pode explicar por que a cTn não tem valor prognóstico nessa doença²⁵. Na insuficiência cardíaca (IC) aguda e crônica, a possível causa da liberação de troponina é o aumento da pré-carga ventricular, provocando tensão miocárdica. Embora a etiologia não seja especificada pela cTn elevada, há um forte valor prognóstico, pois os níveis aumentados da cTn estão intimamente ligados à gravidade da IC²⁶. Pacientes com dissecção aórtica também apresentam aumentos semelhantes na cTn aos observados no IM associado à SCA, tornando a cTn uma ferramenta de diagnóstico ruim. Da mesma forma, a estenose aórtica e outras doenças valvares têm níveis elevados de TnT e TnI, conforme descrito na literatura. Por exemplo, foi relatado que a hs-TnT desempenha um papel de fator prognóstico independente para pacientes com estenose aórtica após cirurgia de substituição valvar^{27,28}.

As condições inflamatórias cardíacas também podem apresentar níveis aumentados de cTn, mais especificamente na pericardite aguda, por meio do envolvimento do epicárdio no processo inflamatório²⁹, enquanto um acidente vascular cerebral (AVC) – tanto o AVC isquêmico quanto a hemorragia intracerebral – pode causar um aumento na cTn, devido a danos secundários ao coração ou uma SCA primária concomitante³⁰. Embora a razão não seja totalmente compreendida, pacientes com embolia pulmonar aguda (EP) apresentam níveis aumentados de cTn. Uma explicação poderia ser a hipoxemia resultante da incompatibilidade perfusão-ventilação, hipoperfusão e embolia paradoxal de veias sistêmicas para artérias coronárias³¹. Em pacientes com EP, a cTnT atinge o pico em níveis mais baixos e persiste por um período de tempo mais curto em comparação com os valores de cTnT no IM agudo³².

A hs-cTnT elevada, por sua vez, precede o avanço da hipertensão e potencialmente identifica pessoas com risco futuro e danos hipertensivos em órgãos-alvo. No entanto, não há recomendações para medir a hs-cTnT na triagem de hipertensão. Por isso, mais pesquisas são necessárias para estabelecer o uso clínico de troponinas no contexto da hipertensão³³.

Entre as desvantagens das troponinas cardíacas como biomarcador de DCV, é possível destacar que elas não são específicas para DCV, pois podem aumentar em várias outras condições. Isso inclui sepse, síndrome do desconforto respiratório agudo, doença pulmonar obstrutiva crônica, insuficiência renal, diabetes, evento neurológico agudo, quimioterapia, medicamentos e toxinas. Além disso, o aumento de cTn não indica uma etiologia específica de DCV, por exemplo, se indica IM, doença arterial coronária, lesão miocárdica ou disfunção crônica relacionada ao miocárdio ou razões de síndrome coronária não aguda³⁴.

Além disso, há questões técnicas relacionadas aos métodos usados para medir cTn. O uso de ensaios de alta sensibilidade para medir troponinas, por exemplo, leva à detecção de cTn na população mais ampla com ou sem DCVs³⁵. As eficiências dos ensaios de cTn também são influenciadas por comorbidades, que causam a medição de níveis imprecisos de circulação de cTn, como visto em hemólise grave³⁶. Questões analíticas relacionadas a anticorpos heterofílicos ou interferência de autoanticorpos podem causar resultados falso-positivos ou negativos de cTn, que de outra forma não podem ser justificados apesar de avaliações clínicas completas³⁷.

3.2 Creatina quinase MB (CK-MB)

A creatina quinase MB (CK-MB) constituiu o padrão ouro para o diagnóstico de IM no passado, embora as diretrizes atuais da European Society of Cardiology (ESC) não recomendem sua medição de rotina para fins diagnósticos. A creatina quinase metaboliza a creatina e a adenosina trifosfato (ATP) em creatina fosfato e adenosina difosfato (ADP) nas células musculares, enquanto a isoenzima CK-MB constitui 20% do pool geral de CK do miocárdio. A CK-MB começa a aumentar de 4 a 6 horas após um IM, atinge seu ápice em 24 horas e diminui em 48 a 72 horas, possibilitando a detecção precoce de um novo infarto^{38,39}. Durante as primeiras 6 horas após um IM, a CK-MB tem um VPN de 97% e uma sensibilidade de 91%. Como a CK-MB também é liberada do músculo esquelético, é importante evitar falsos positivos no diagnóstico, mantendo atenção à regularidade e à quantidade de secreção. Uma relação CK-MB:CK > 2,5% aumenta a probabilidade de fontes cardíacas³⁹.

Além das propriedades diagnósticas, a CK-MB também tem características prognósticas, uma vez que seu pico se correlaciona com a largura da lesão e anomalias de movimento da parede em infartos menores não transmuralis e maiores após a reperfusão^{40,41}. Quatro meses após sofrerem um STEMI, pacientes foram avaliados por Xiang et al⁴², que consideraram o pico de CK-MB um preditor muito forte do índice de volume

sistólico final, auxiliando no prognóstico da remodelação do ventrículo esquerdo (VE). Outras associações úteis consistem em níveis máximos de CK-MB correlacionados com a mortalidade em 3 anos no NSTEMI após intervenção coronária percutânea (ICP)⁴³ e com a rara incidência de IC após um STEMI⁴⁴. Entre pacientes com IM submetidos a angiografia coronária, aqueles com um log pré-procedimento (CK-MB) >4,7 apresenta uma incidência maior de lesão renal aguda induzida por contraste (CI-AKI), independentemente de outros fatores de risco⁴⁵.

3. Biomarcadores de ativação neuro-hormonal

3.2 Peptídeos natriuréticos cardíacos

Grupo de hormônios secretados pelos cardiomiócitos, os peptídeos natriuréticos (NPs) são responsáveis por vários papéis protetores do sistema cardiovascular, incluindo diurese, natriurese e vasodilatação, além da oposição aos efeitos do sistema aldosterona-renina. Também estimulam processos metabólicos como lipólise, perda de peso e melhora da sensibilidade à insulina⁴⁶, sendo suas anormalidades associadas a diversas doenças cardiovasculares – insuficiência cardíaca (IC), fibrilação atrial, hipertensão arterial sistêmica e doenças cardíacas inflamatórias – o que os tornam biomarcadores para avaliar a patogênese, diagnóstico, prognóstico e terapia de DCVs⁴⁷. Em humanos, os principais NPs cardíacos são o peptídeo natriurético atrial (ANP), o peptídeo natriurético tipo B (BNP) e o peptídeo natriurético tipo C (CNP), que formam um sistema regulador bem integrado e possuem conformação estrutural semelhante, mas potência diferente⁴⁸.

Enquanto a regulação transcricional do ANP e do BNP em humanos é controlada pelas células cardíacas, a transcrição do CNP não é controlada por nenhum tipo específico de cardiomiócitos, pois ele é derivado principalmente de células endoteliais e se apresenta no miocárdio atrial e ventricular^{49,50}. Em condições patológicas, o principal estimulante para a liberação de ANP e BNP é o estiramento mecânico do miocárdio e a ativação neuro-hormonal, sendo tanto o BNP quanto o ANP elevados uma resposta ao estresse da parede do ventrículo induzido por miócitos esticados devido à sobrecarga de pressão ou expansão de volume do ventrículo – presentes em condições de IC e IM^{51,52}. A liberação de BNP ou ANP melhora o relaxamento miocárdico ao inibir a vasoconstrição, a retenção de líquidos e as ações antiuréticas do sistema renina-angiotensina-aldosterona estimulado⁴⁶.

Todos os peptídeos natriuréticos são sintetizados como pré-pró-hormônios, que são clivados em um fragmento N-terminal inativo (NTproANP, NT-proBNP) e o ANP biologicamente ativo ou BNP⁵³. Assim como o BNP e o ANP biologicamente ativos, o NT-proBNP e o NT-proANP podem ser encontrados no plasma⁵⁴. O ANP ativo tem uma meia-vida muito curta, de menos de 5 min, o que torna o NT-proANP um biomarcador mais confiável, já que é secretado correlacionalmente com o ANP, mas tem uma meia-vida mais longa (60 a 120 min)⁵⁵. Como o NT-proANP pode ser clivado em

fragmentos ainda menores in vivo, a determinação do proANP médio-regional (aminoácidos 53–90; MR-proANP) é o local de detecção favorável do ANP⁵⁶. A meia-vida do BNP e do NT-proBNP é de 20 min e 90 a 120 min, respectivamente, e seus níveis circulantes podem ser usados no atendimento ao paciente, pois estão correlacionados⁵⁷.

A elevação dos níveis circulantes de NPs auxilia na detecção de DCVs e está relacionada a um pior prognóstico, independentemente da etiologia do aumento. Na realidade, os NPs são responsáveis pela classificação da gravidade, influenciando os planos de tratamento e avaliando o prognóstico da doença cardíaca⁵⁸. Os níveis de BNP e NT-proANP são relatados como preditivos independentes do risco de morte por evento cardiovascular grave, IC, acidente vascular cerebral ou ataque isquêmico transitório e fibrilação atrial. Em indivíduos aparentemente saudáveis, o NTproBNP fornece informações prognósticas de mortalidade e primeiros eventos cardiovasculares graves que vão além dos fatores de risco clássicos⁵⁹.

Na IC aguda, os NPs aumentam para níveis sanguíneos muito altos enquanto apresentam menor extensão na IC crônica. Segundo as diretrizes da ACCF/AHA/ESC, o BNP e o NT-proBNP são considerados os biomarcadores mais valiosos e confiáveis para o diagnóstico de IC aguda e crônica, com aumento proporcional à gravidade da doença^{60,61}. Esse aumento ocorre pois os pacientes podem manifestar um estado de insuficiência de BNP, relacionado tanto à deficiência de BNP ativo quanto à resistência às suas ações⁶². O ANP, no entanto, também é secretado em pacientes com IC crônica, sendo sua liberação menos acentuada do que a do BNP e suprimida em casos graves pelo aumento do BNP. A medição do MR-proANP, por sua vez, pode fornecer informações adicionais relevantes na avaliação da IC e se correlaciona com o estresse da parede ventricular e a gravidade da doença⁵⁶.

Como os NPs afetam várias funções do sistema cardiovascular, seus níveis aumentam em diferentes DCVs, a exemplo das doenças cardíacas isquêmicas agudas, incluindo IM, associadas a uma elevação dos níveis de BNP e NT-proBNP, o que possibilita prever o prognóstico e sua gravidade⁶³. Após o IM, o NT-proBNP se mantém elevado por cerca de 12 semanas, podendo ser mais útil do que o BNP como um biomarcador diagnóstico e prognóstico⁶⁴. Além disso, o BNP e o NT-proBNP estão relacionados a arritmias, já que ambos se encontram elevados em pacientes com fibrilação atrial^{65,66}. Aumento paralelo nos níveis circulantes de NPs e troponinas também foi relatado em pacientes com várias taquicardias⁶⁷. Experimentos com animais indicam que o mRNA do BNP e sua proteína aumentam 10 minutos após arritmias ventriculares letais transitórias, possivelmente mediadas por estiramento miocárdico⁶⁸.

Os níveis de BNP também são consideravelmente elevados na TC, com um valor de razões BNP/cTnT e BNP/CK-MB iniciais para distinguir a TC do IM agudo, com maior precisão do que apenas o BNP sozinho⁶⁹. Pacientes

com doenças valvares, incluindo estenose aórtica, apresentam níveis aumentados de NPs, que são úteis para o monitoramento clínico antes e depois da cirurgia valvar. Geralmente, os níveis de NPs tendem a aumentar de acordo com a gravidade da disfunção valvular e a consequente remodelação cardíaca, fornecendo detalhes prognósticos capazes de orientar a estratificação de risco e o agendamento da cirurgia⁷⁰.

Níveis elevados de NPs podem ser observados na embolia pulmonar, indicando uma possível distensão do coração direito, mas não na mesma extensão que na IC⁷¹. Pacientes com outras doenças pulmonares podem apresentar níveis elevados de BNP, porém muito mais baixos do que na IC. Anormalidades do coração direito resultantes de doença pulmonar grave são capazes de ocasionar aumento dos níveis circulantes de NPs, que também apresentam informações importantes sobre a gravidade da hipertensão^{72,73}. Dados de um estudo indicaram o valor prognóstico para NT-proBNP para detectar danos estruturais cardíacos subjacentes em pacientes hipertensos assintomáticos⁷⁴, enquanto em outro estudo foi sugerido que os níveis de BNP podem auxiliar na previsão da presença de disfunção da parede ventricular⁷⁵.

Como desvantagens, concentrações circulantes aumentadas de NPs na circulação para diagnóstico de DCV não são adequadamente precisas ou específicas. Na realidade, a expressão de NPs não é exclusiva do coração, sendo o ANP detectado nos pulmões, cérebro, fígado e em vários tipos de células, como células imunes, e o BNP em humanos expresso no cérebro, pulmões, rins, aorta e glândulas suprarrenais^{76,77}. Fora do coração, as concentrações de ANP e BNP são muito menores. Frequentemente, seu valor diagnóstico é complicado devido a condições não cardíacas – algumas delas potencialmente fatais –, como insuficiência renal aguda ou crônica⁷⁸, cirrose hepática ascítica⁷⁹, doenças respiratórias⁸⁰, obesidade e distúrbios endócrinos, como hiperaldosteronismo⁸¹, tumores suprarrenais⁸² e hipertireoidismo⁸³. Além disso, vários elementos fisiológicos estão associados a níveis mais elevados de NPs, incluindo o aumento da idade e o sexo feminino⁸⁴.

4.2 Copeptina

Marcador neuro-hormonal do estresse, a copeptina é a porção C-terminal de 39 aminoácidos do peptídeo precursor da vasopressina arginina (AVP), que é liberada da glândula pituitária posterior para a corrente sanguínea mediante estímulos apropriados⁸⁵. A taxa de liberação de copeptina está diretamente ligada à liberação de AVP, que é essencial para preservar o equilíbrio hídrico do corpo. Também conhecida como hormônio antidiurético (ADH), a AVP controla a reabsorção renal de água livre, o volume total de sangue, a osmolalidade do fluido corporal, a vasoconstrição, a contração miocárdica e a proliferação celular⁸⁶. A AVP tem um baixo peso molecular de nove aminoácidos e uma meia-vida muito curta, de 24 minutos, por isso seus níveis são melhor representados pela copeptina circulante, que

é mais confiável. Na verdade, a coceptina tem dias de estabilidade após a retirada do sangue e é medida por um ensaio imunoluminométrico do tipo sanduíche dentro de 3 horas^{87,88}.

A coceptina é secretada no início do IM. Porém, existem dados controversos sobre sua utilidade no diagnóstico do IM, com alguns dados indicando seu valor na identificação de pacientes de baixo risco que chegam à emergência com um potencial IM agudo⁸⁹. Outros estudos apontam que se os ensaios rápidos de exclusão de hs-cTn estiverem disponíveis, a coceptina tem valor agregado limitado⁹⁰. Em combinação com cTn, níveis de coceptina podem fornecer informações prognósticas. Seus níveis também aumentam em várias DCVs, incluindo o desenvolvimento de IC, onde os níveis de AVP circulante se elevam^{91,92}. Na realidade, a coceptina demonstrou ser um prognosticador valioso do resultado e da gravidade da IC, além de um prognosticador independente da mortalidade, geralmente indicando um prognóstico ruim⁹³. Níveis aumentados de coceptina também são observados na EP, na síndrome aórtica aguda e na hipertensão⁸⁶.

No geral, a coceptina não é um marcador específico para DCV, sendo mais um biomarcador complementar, capaz de ser usado como parte de um painel de prognóstico de risco para melhor orientar decisões clínicas. Suas desvantagens como biomarcador de DCV incluem outros distúrbios aos quais seus níveis elevados estão associados, incluindo distúrbios respiratórios (por exemplo, exacerbação aguda de doença pulmonar obstrutiva crônica, infecções do trato respiratório inferior e dispneia aguda), sepse, choque séptico e hemorrágico, diabetes, síndrome metabólica, hiponatremia, choque vasodilatador, diabetes, doença renal policística, hemorragia intracerebral, acidente vascular cerebral isquêmico e lesão cerebral traumática⁹⁴.

5. BIOMARCADORES ADICIONAIS

5.1 Proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco (H-FABP)

A proteína de ligação a ácidos graxos do tipo cardíaco (H-FABP) pertence à família FABP e desempenha um papel em várias atividades celulares, incluindo transporte de lipídios cardíacos, regulação da proliferação celular e homeostase dos miócitos⁹⁵. A família FABP é encontrada em tecidos que demandam maior atividade de ácidos graxos, sendo o H-FABP concentrado principalmente no coração⁹⁶. Grandes quantidades de H-FABP são encontradas em células musculares e rapidamente secretadas após danos cardíacos, devido ao baixo tamanho molecular e à localização citoplasmática livre⁹⁷. Nenhuma reação cruzada foi observada entre H-FABP e outros tipos de FABP, mesmo com as diferenças de H-FABP em morfologia e imunologia. Consequentemente, H-FABP exibe uma especificidade significativa para diagnóstico de danos miocárdicos⁹⁸.

Muitos relatórios destacam o H-FABP como um antigo marcador específico de dano miocárdico. Comparados às troponinas cardíacas, seus níveis de circulação se elevam três horas após o início do IM agudo e

retribuem dentro de 20 horas⁹⁹. Além disso, o H-FABP circulante também aumenta de forma significativa após 15 minutos de IM induzido por ablação transcoronária de hipertrofia septal em pacientes com cardiomiopatia obstrutiva hipertrófica⁹⁷. Alguns estudos, no entanto, sugerem valor adicional do uso do H-FABP em conjunto com hs-troponinas⁸², enquanto outros não indicam vantagens dos níveis de H-FABP com cTn para o diagnóstico de IM agudo¹⁰⁰.

Relatórios avaliaram a função do H-FABP na IC, sugerindo uma associação imparcial entre o H-FABP e os resultados da IC, assim como o risco de lesões cardíacas prejudiciais¹⁰¹. Níveis mais elevados de H-FABP são registrados em pacientes com arritmia e IC¹⁰². Uma correlação imparcial do H-FABP com os resultados clínicos também foi identificada em pacientes hipertensos com doença da valva aórtica¹⁰³. Além disso, a remodelação cardíaca caracterizada pelo ECG está correlacionada com os níveis de H-FABP em pacientes que exibiram níveis de troponina abaixo dos limites atuais¹⁰⁴. O H-FABP desempenha um papel na avaliação de risco de EP, pois indica a tensão do ventrículo direito precocemente¹⁰⁵.

As desvantagens do H-FABP como um biomarcador de DCV correspondem a resultados pouco claros na disfunção renal, já que a eliminação do H-FABP é completamente dependente dos rins, e ao fato de que o H-FABP tem baixa especificidade na presença de lesão muscular esquelética, pois aumenta em doenças musculares esqueléticas¹⁰⁶.

5.2 Adrenomedulina (ADM)

Peptídeo sintetizado em muitos tecidos – especialmente células estruturais da vasculatura – a adrenomedulina (ADM) tem inúmeras ações biológicas, entre elas, a de ser um vasodilatador renal com propriedades natriuréticas e diuréticas¹⁰⁷. É derivada de um peptídeo precursor (proADM) por processamento pós-traducional, dando dois fragmentos inativos clivados (a parte médio-regional da proADM (MR-proADM) e o C-terminal da molécula). A titulação da secreção de ADM na circulação é desafiadora devido ao seu acoplamento instantâneo aos receptores na proximidade de sua geração, induzindo atividades autócrinas ou parácrinas. Além disso, seus níveis circulantes são reduzidos pela curta meia-vida e sua instabilidade. Por isso, é mais fácil medir os níveis de MR-proADM, que são mais estáveis e refletem diretamente os níveis de ADM¹⁰⁸.

No IM agudo, os níveis de ADM aumentam na fase inicial, atingindo seu ponto máximo após 2 a 3 dias e retornando à linha de base após três semanas. Seus níveis também se elevam na IC, conforme à gravidade e ao prognóstico da doença, assim como na IC isquêmica com disfunção ventricular. Porém, a ADM está longe de ser um biomarcador específico para DCVs, pois seus níveis elevados podem indicar várias outras doenças, como disfunção renal, diabetes e choque séptico, hemorrágico ou cardiogênico¹⁰⁷.

5.3 P-Selectina

Molécula de adesão à superfície celular, a P-selectina é expressa em células endoteliais ativadas e plaquetas após estímulos inflamatórios. Considera-se que a P-selectina participa da patologia da aterosclerose, um fator de risco chave para DCVs. Existem relatos de que em pacientes com doença arterial coronária ou após um IM agudo os níveis de P-selectina se elevam, sendo a um prognóstico desfavorável. Também foi demonstrado que a P-selectina tem um valor diagnóstico adicional quando usada em combinação com troponina e ECG para excluir IM agudo com sensibilidade relativamente alta. Além disso, níveis aumentados de P-selectina circulante estão associados a um risco maior de desenvolver IM agudo, acidente vascular cerebral e morte relacionada a DCV em mulheres saudáveis. A prática de exercícios e a idade são outros fatores capazes de promover seu aumento¹⁰⁹.

5.4 Receptor ativador do plasminogênio tipo uroquinase solúvel (suPAR) e inibidor do ativador do plasminogênio-1 (PAI-1)

Enquanto o receptor ativador do plasminogênio uroquinase solúvel (suPAR) é um biomarcador pró-inflamatório, relacionado à resposta imune e à inibição da fibrinólise, implicado na aterosclerose, o inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1) – um potente inibidor da fibrinólise –, além da aterosclerose, está associado ao acúmulo excessivo de fibrina e à formação de trombos. Níveis elevados de suPAR e PAI-1 circulantes, portanto, estão correlacionados com risco aumentado de eventos adversos importantes de DCV, incluindo morte e IM em doença arterial coronária avançada, bem como na fase inicial da aterosclerose. Em pacientes com IM, níveis aumentados de suPAR preveem mortalidade por todas as causas e IM recorrente. Da mesma forma, altas concentrações de PAI-1 são um fator de risco independente para eventos importantes de DCV após colocação bem-sucedida de stent coronário. Níveis elevados de suPAR também indicam risco aumentado de DCV em indivíduos saudáveis. A associação entre suPAR e desenvolvimento de doença e mortalidade na população em geral, no entanto, não foi específica para DCV, uma vez que níveis circulantes de suPAR e PAI-1 são associados ao desenvolvimento de doenças inflamatórias, câncer, diabetes tipo 2 e mortalidade^{110,111}.

5.5 Endocan

Molécula específica de célula endotelial 1, o Endocan é um proteoglicano de sulfato de dermatano solúvel, excretado pelas células endoteliais ativadas dos vasos. É regulado positivamente por uma variedade de citocinas pró-inflamatórias – fator de necrose tumoral- α (TNF- α), interleucina-1 β (IL-1 β), fator de crescimento endotelial vascular- α (VEGF- α), e está implicado na ligação de glóbulos brancos ao endotélio e em processos inflamatórios induzindo os níveis de molécula de adesão de células vasculares (VCAM), molécula de adesão intercelular (ICAM) e e-selectina.

Como resultado desses mecanismos, o endocan é considerado um marcador potencial para muitas doenças, incluindo sepse, doenças pulmonares e renais, pré-eclâmpsia e insuficiência cardíaca crônica. Em relação à doença cardiovascular, pode atuar como um marcador substituto para hipertensão, doença arterial coronária (DAC), fluxo lento coronário, angina e aterosclerose subclínica¹¹².

Ao avaliarem o endocan após um STEMI e UA/NSTEMI, Ziaee et al.¹¹³ concluíram que o endocan está correlacionado com MACE e aumento da pontuação de risco de trombólise no IM (TIMI), apresentando níveis mais altos no STEMI em comparação ao grupo NSTEMI/UA. Seu papel prognóstico também foi examinado por Kundi et al.¹¹⁴, sendo seus níveis elevados na presença de STEMI em comparação aos controles e associados ao aumento do risco cardiovascular e a uma alta pontuação SYNTAX.

5.6 Galectina-3 (GAL-3)

Membro da família de lectinas de ligação a β -galactosídeos, a galectina-3 (GAL-3) participa da alteração das interações célula-célula e célula-matriz, assim como na regulação das funções celulares na superfície celular. Também está envolvida na adesão celular, proliferação, apoptose e angiogênese. Além de aumentar a fibrose, seus níveis de circulação são associados à remodelação cardíaca e à hipertrofia ventricular. Níveis elevados de GAL-3 auxiliam na detecção de estágios iniciais de disfunção miocárdica, IC e outras doenças cardíacas, como SCA e miocardite aguda, indicando um prognóstico desfavorável, o que a torna um potencial biomarcador sensível para DCVs¹¹⁵.

5.7 Metaloproteínases da matriz (MMPs) e seus inibidores teciduais (TIMPs)

As metaloproteínases de matriz (MMPs) são enzimas que degeneram componentes que formam a matriz extracelular e desviam elementos biologicamente ativos, como fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas. Sua ação é regulada pelos inibidores endógenos de tecido de metaloproteínases (TIMPs), sendo o equilíbrio da interação entre MMPs e TIMPs responsável por manter a homeostase do tecido. Mudanças neste equilíbrio estão envolvidas na progressão de DCVs, o que torna os compostos de MMPs e TIMPs biomarcadores promissores para a prevenção de DCVs. Em pacientes com estenose da artéria coronária, por exemplo, os níveis séricos de TIMP-1 apresentam uma correlação com a incidência de eventos cardíacos adversos importantes¹¹⁶.

Os níveis circulantes de TIMP-1 são mais elevados em homens do que em mulheres, aumentando de acordo com fatores de risco de DCV, como idade, índice de massa corporal, níveis de colesterol, tabagismo e diabetes. Outro exemplo é a MMP-3, que demonstrou relação com o IM, assim como os níveis de MMP-8 associados ao risco de um evento de doença arterial coronária, IM e morte¹¹⁷. Entre os tipos de MMP, a MMP-9 é o mais estudado,

pois além de refletirem a gravidade do IM, seus níveis preveem a mortalidade em paciente com IM e a progressão da IC. Na hipertensão, a MMP-9 induzida precocemente aumenta a degradação do colágeno e a destruição arterial em hipertensos com seus níveis séricos elevados, relacionados à rigidez aórtica. Esses fatores contribuem para a MMP e o TIMP se tornem biomarcadores específicas promissores para o diagnóstico e prognóstico das DCV na prática clínica¹¹⁸.

5.8 Fator de diferenciação do crescimento 15 (GDF-15)

O fator de diferenciação do crescimento-15 (GDF-15), anteriormente conhecido como um gene 1 ativado por medicamento anti-inflamatório não esteroidal (AINE) (NAG-1) e citocina inibitória de macrófagos 1 (MIC-1), pertence à família do fator de crescimento transformador β (TGF- β). Está relacionado a doenças cardiovasculares e outras condições, como inflamação, estresse oxidativo e estresse celular. Níveis elevados de GDF-15 foram associados a uma maior ocorrência de IM com elevação do segmento ST e SCA sem elevação do segmento ST. Danos nos tecidos e condições inflamatórias também são responsáveis pelo aumento de seus níveis. Considera-se que níveis elevados de GDF-15 estão autonomamente associados a uma maior probabilidade de eventos cardíacos recorrentes, sugerindo sua viabilidade como um indicador para avaliar risco futuro¹¹⁹.

5.9 Supressão de tumorigenicidade 2 (ST2)

Receptor celular para a interleucina-33 (IL-33) e pertencente à família do receptor da interleucina-1, a supressão da tumorigenicidade 2 (ST2) tem duas variantes, incluindo as isoformas transmembrana (ST2L) e solúvel (sST2), que podem ser detectadas na circulação. É transcrita por cardiomiócitos e células endoteliais vasculares juntamente com seu agonista IL-33 após dano miocárdico. O acoplamento de IL-33 e ST2L suprime a hipertrofia, fibrose e apoptose do coração e alivia a remodelação cardíaca prejudicial. O sST2, no entanto, compete com o ST2L para ligar a IL-33, levando à supressão dos efeitos protetores da via ST2L-IL33 para o coração¹²⁰. Foi relatado que os níveis sanguíneos de sST2 são elevados no início da IC e no agravamento da IC crônica, assim como no IM, comprometimento da válvula aórtica e hipertensão, representando um potencial preditor do prognóstico de DCV¹²¹.

Embora o sST2 possa desempenhar um papel importante como marcador prognóstico no contexto de DCVs, ele tem valor diagnóstico limitado, pois seus níveis elevados não são específicos para nenhuma doença. Os altos níveis de sST2 podem ocorrer não apenas em DCVs, mas também em doenças pulmonares, queimaduras e doenças imunológicas¹²⁰. A origem exata do sST2 circulante não é clara e estudos não provaram que as células cardíacas eram as únicas responsáveis pelas alterações do sST2 sérico nas DCVs. Como a contribuição da secreção não cardíaca para os níveis totais de sST2 circulante, assim como as implicações fisiopatológicas

do sST2 nas DCV, ainda não foram bem estudadas, pesquisas futuras ainda são necessárias¹²¹.

5.10 Fosfolipase A2 associada à lipoproteína (Lp-PLA2)

A fosfolipase A2 associada à lipoproteína (Lp-PLA2) é secretada por células inflamatórias que estão envolvidas na formação de placas vulneráveis e no desenvolvimento da aterosclerose. Seus níveis elevados são associados ao aumento do risco de eventos coronários, não relacionados aos níveis de colesterol total. Em pacientes com DCVs, os níveis de Lp-PLA2 também preveem resultados adversos, indicando seu valor prognóstico. Investigações adicionais, no entanto, são necessárias para confirmar o valor potencial da Lp-PLA2 como um biomarcador para DCVs¹²².

5.11 Ligante CD40 solúvel

Mediador da inflamação vascular, o ligante CD40 solúvel (sCD40L) está envolvido na aterogênese, ativando o receptor CD40 em várias células que contribuem para a progressão da aterosclerose, incluindo macrófagos, células endoteliais e células T. Tanto os anticorpos quanto a deficiência de CD40L são associados à redução da aterosclerose. Concentrações de sCD40L, por sua vez, foram associadas ao prognóstico em SCA. Porém, o conhecimento atual sobre sCD40L é limitado, sendo necessário explorar seu real valor para a prática clínica¹²³.

5.12 MicroRNAs

Grupo de ácidos ribonucleicos (RNAs) não codificantes, os microRNAs (miRNAs) desempenham um papel significativo no controle da expressão genética, sendo sua expressão desregulada relacionada a inúmeras doenças. Podendo ser liberados em fluidos extracelulares, onde atuam como biomarcadores potenciais de várias condições, os miRNAs também funcionam como moléculas de sinalização, facilitando a comunicação célula a célula. Estudos demonstraram o papel dos miRNAs em doenças cardiovasculares, no controle uma ampla gama de processos, como morte de cardiomiócitos, crescimento celular, inflamação e formação de vasos sanguíneos, sendo as moléculas miRNA-133a e miRNA-208b associadas a um aumento significativo na mortalidade por todas as causas 6 meses após um IAM e o miRNA-145 um potencial biomarcador prognóstico para mortalidade cardiovascular e progressão da insuficiência cardíaca¹²⁴.

Devido a sua capacidade de controlar vários genes com diferentes vias de sinalização, os miRNAs são ferramentas terapêuticas promissoras e inovadoras, com abordagens aplicadas em áreas como angiogênese, aterosclerose, lesão isquêmica, remodelação vascular, hipertrofia e fibrose. O miR-195-3p, por exemplo, pode desempenhar um papel fundamental no desenvolvimento de fibrose cardíaca e disfunção após um ataque cardíaco, sendo sua inibição um recurso de prevenção da fibrose cardíaca e de manutenção da função cardíaca após um ataque cardíaco¹²⁵.

Em estudo, Kumar et al¹²⁶ avaliaram assinaturas genéticas potenciais associadas à cardioproteção e identificaram 91 genes expressos diferencialmente que podem ter relevância para o IAM. A análise também destacou o envolvimento do miR-660 e do STAT1, conhecidos por impactar a gravidade do IAM. Esses genes e miRNA podem ser essenciais para resgatar cardiomiócitos de danos graves, oferecendo insights potenciais para o desenvolvimento de estratégias terapêuticas no tratamento do IAM. Embora os miRNAs sejam promissores no diagnóstico precoce do IM, é relevante a realização de estudos que estabeleçam seu potencial como biomarcadores cardíacos na prática diária¹²⁴.

5.13 Outros biomarcadores

Biomarcadores inflamatórios tradicionais estão envolvidos na patologia das DCVs, incluindo amiloide A sérico, osteoprotegerina (OPG), mieloperoxidase, PCR, velocidade de hemossedimentação (VHS), citocinas, neutrófilos e monócitos. Além disso, biomarcadores bem descritos em diferentes DCVs fornecem informações importantes sobre a progressão de uma determinada doença. Uma vez que existe uma relação estreita entre a regulação funcional dos rins e do coração, por exemplo, não é surpreendente que marcadores relacionados à função renal, como cistatina C, ácido úrico e albuminúria, desempenhem um papel na avaliação de pacientes com várias DCVs (por exemplo, em pacientes com IC). Da mesma forma, considera-se que marcadores de distúrbios metabólicos apresentam uma informação prognóstica para a gravidade de DCVs, como o perfil lipídico, vitamina D, fetuína-A e biomarcadores relacionados ao diabetes, por exemplo, níveis de glicose no sangue e hemoglobina A1c. Estes podem ser adições valiosas em abordagens de múltiplos marcadores para triagem, diagnóstico e prognóstico eficazes de DCVs¹²⁷.

REFERÊNCIAS

1. Strimbu K, Tavel JA. What are biomarkers? Curr Opin HIV AIDS. 2010;5(6):463-6.
2. Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. Ann Transl Med. 2016;4(10):194.
3. Sorensen NS. Creatine phosphokinase in the diagnosis of myocardial infarction. Acta Med Scand. 1963;174:725-34.
4. Smith AF. Separation of tissue and serum creatine kinase isoenzymes on polyacrylamide gel slabs. Clin Chim Acta. 1972;39(2):351-9.

5. Gilkeson G et al. Detection of myoglobin by radioimmunoassay in human sera: its usefulness and limitations as an emergency room screening test for acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1978;95(1):70-7.
6. Engvall E, Perlmann P. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Quantitative assay of immunoglobulin G. *Immunochemistry*. 1971;8(9):871-4.
7. Chan DW et al. Immunoenzymetric assay for creatine kinase MB with subunit-specific monoclonal antibodies compared with an immunochemical method and electrophoresis. *Clin Chem*. 1985;31(3):465-9.
8. Ganz W. The thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) trial. *N Engl J Med*. 1985;313(16):1018.
9. Behera S, Pramanik K, Nayak M. Recent advancement in the treatment of cardiovascular diseases: conventional therapy to nanotechnology. *Curr Pharm Des*. 2015;21:4479-97.
10. Aronson JK, Ferner RE. Biomarkers – A general review. *Curr Protoc Pharmacol*. 2017;2017:9.23.1-17.
11. Smith JJ, Sorensen AG, Thrall JH. Biomarkers in imaging: Realizing radiology's future. *Radiology*. 2003;227:633-8.
12. Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, Ballantyne CM, Criqui MH, Elkind MSV, et al. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk: A scientific statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;119:2408-16.
13. Li MX, Hwang PM. Structure and function of cardiac troponin C (TNNC1): Implications for heart failure, cardiomyopathies, and troponin modulating drugs. *Gene*. 2015;571:153-66.
14. Karlén J, Karlsson M, Eliasson H, Bonamy AKE, Halvorsen CP. Cardiac troponin T in healthy full-term infants. *Pediatr Cardiol*. 2019;40:1645-54.
15. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:1581-98.
16. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth universal definition of myocardial infarction (2018). *J Am Coll Cardiol*. 2018;72:2231-64.

17. Keller T, Zeller T, Peetz D, Tzikas S, Roth A, Czyz E, et al. Sensitive troponin I assay in early diagnosis of acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2009;361:868-77.
18. Doust J, Glasziou P. High-sensitivity troponin highlights the need for new methods to evaluate diagnostic tests. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2018;11:9-12.
19. 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 ischemia using an ultrasensitive assay: Results from TIMI 35. *Eur Heart J*. 2009;30:162-9.
20. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *Int J Cardiol*. 2016;221:609-21.
21. Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac troponins: From myocardial infarction to chronic disease. *Cardiovasc Res*. 2017;113:1708-18.
22. 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;31:2197-204.
23. Hallén J. Troponin for the estimation of infarct size: What have we learned? *Cardiology*. 2012;121:204-12.
24. Ramaraj R, Sorrell VL, Movahed MR. Levels of troponin release can aid in the early exclusion of stress-induced (Takotsubo) cardiomyopathy. *Exp Clin Cardiol*. 2009;14:6-8.
25. Nef HM, Möllmann H, Kostin S, Troidl C, Voss S, Weber M, et al. Tako-Tsubo cardiomyopathy: Intraindividual structural analysis in the acute phase and after functional recovery. *Eur Heart J*. 2007;28:2456-64.
26. Peacock WF, De Marco T, Fonarow GC, Diercks D, Wynne J, Apple FS, et al. Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *N Engl J Med*. 2008;358:2117-26.
27. Nunes JPL. Elevated troponin and aortic valve disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61:1467.
28. Martin A, Malhotra A, Sullivan B, Ramakrishna H. Troponin elevations in patients with chronic cardiovascular disease: An analysis of current evidence and significance. *Ann Card Anaesth*. 2016;19:321-7.

29. McNamara N, Ibrahim A, Satti Z, Ibrahim M, Kiernan TJ. Acute pericarditis: A review of current diagnostic and management guidelines. *Future Cardiol.* 2019;15:119-26.
30. Kerr G, Ray G, Wu O, Stott DJ, Langhorne P. Elevated troponin after stroke: A systematic review. *Cerebrovasc Dis.* 2009;28:220-6.
31. Giannitsis E, Katus HA. Biomarkers for clinical decision-making in the management of pulmonary embolism. *Clin Chem.* 2017;63:91-100.
32. Müller-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;48:673-5.
33. McEvoy JW, Chen Y, Nambi V, Ballantyne CM, Sharrett AR, Appel LJ, et al. High-sensitivity cardiac Troponin T and risk of hypertension. *Circulation.* 2015;132:825-33.
34. Agewall S, Giannitsis E, Jernberg T, Katus H. Troponin elevation in coronary vs. non-coronary disease. *Eur Heart J.* 2011;32:404-11.
35. Klinkenberg LJJ. High-sensitivity cardiac troponins in health and disease. *Ned Tijdschr Voor Klin Chemie Lab.* 2016;41:235-41.
36. Florkowski C, Wallace J, Walmsley T, George P. The effect of hemolysis on current troponin assays – A confounding preanalytical variable? *Clin Chem.* 2010;56:1195-7.
37. Panteghini M. Assay-related issues in the measurement of cardiac troponins. *Clin Chim Acta.* 2009;402:88-93.
38. Morrow DA, de Lemos JA. Benchmarks for the assessment of novel cardiovascular biomarkers. *Circulation* 2007;115:949–52.
39. Maisel AS, Mueller C, Nowak RM, et al. Mid-region pro-hormone markers for diagnosis and prognosis in acute dyspnea: results from the BACH (Biomarkers in Acute Heart Failure) trial. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2062–76.
40. Agnello L, Bivona G, Novo G, et al. Heart-type fatty acid binding protein is a sensitive biomarker for early AMI detection in troponin negative patients: a pilot study. *Scand J Clin Lab Investig* 2017;77:428–32.
41. Gutiérrez-Leonard H, Martínez-Lara E, Fierro-Macías AE, et al. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) as a possible biomarker in patients with coronary artery disease. *Ir J Med Sci* 2017;186:597–605.

42. Xiang Y, Zhang Z, Xie C, et al. Serum Cat S, TSP-1, IL-11, BNP and SST2 diagnostic and prognostic value in chronic heart failure. *Altern Ther Health Med* 2022;28:55–9.
43. Li G, Song Y, Li YD, et al. Circulating miRNA-302 family members as potential biomarkers for the diagnosis of acute heart failure. *Biomark Med* 2018;12:871–80.
44. Ding H, Wang Y, Hu L, et al. Combined detection of miR-21- 5p, miR-30a-3p, miR-30a-5p, miR-155-5p, miR-216a and miR-217 for screening of early heart failure diseases. *Biosci Rep* 2020;40:BSR20191653.
45. Li DM, Li BX, Yang LJ, et al. Diagnostic value of circulating microRNA-208a in differentiation of preserved from reduced ejection fraction heart failure. *Heart Lung* 2021;50:71–4.
46. Gupta DK, Wang TJ. Natriuretic peptides and cardiometabolic health. *Circ J*. 2015;79:1647–55.
47. Pemberton CJ, Charles CJ, Richards AM. Cardiac natriuretic peptides. In: *Endocrinology of the heart in health and disease: Integrated, cellular, and molecular endocrinology of the heart*. Cambridge, MA, USA: Academic Press; 2016. p. 1–354.
48. del Ry S, Cabiati M, Clerico A. Natriuretic peptide system and the heart. *Cardiovasc Issues Endocrinol*. 2014;43:134–43.
49. Houweling AC, van Borren MM, Moorman AFM, Christoffels VM. Expression and regulation of the atrial natriuretic factor encoding gene *Nppa* during development and disease. *Cardiovasc Res*. 2005;67:583–93.
50. Kalra PR, Clague JR, Bolger AP, Anker SD, Poole-Wilson PA, Struthers AD, et al. Myocardial production of C-type natriuretic peptide in chronic heart failure. *Circulation*. 2003;107:571–3.
51. Hama N, Itoh H, Shirakami G, Nakagawa O, Suga S, Ogawa Y, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation*. 1995;92:1558–64.
52. Nakagawa O, Ogawa Y, Itoh H, Suga SI, Komatsu Y, Kishimoto I, et al. Rapid transcriptional activation and early mRNA turnover of brain natriuretic peptide in cardiocyte hypertrophy: Evidence for brain natriuretic peptide as an ‘emergency’ cardiac hormone against ventricular overload. *J Clin Investig*. 1995;96:1280–7.

53. Kerkelä R, Ulvila J, Magga J. Natriuretic peptides in the regulation of cardiovascular physiology and metabolic events. *J Am Heart Assoc.* 2015;4:e002423.
54. Yamanouchi S, Kudo D, Endo T, Kitano Y, Shinozawa Y. Blood N-terminal proBNP as a potential indicator of cardiac preload in patients with high volume load. *Tohoku J Exp Med.* 2010;221:175–80.
55. Buckley MG, Marcus NJ, Yacoub MH. Cardiac peptide stability, aprotinin and room temperature: Importance for assessing cardiac function in clinical practice. *Clin Sci.* 1999;97:689–95.
56. Cappellin E, Gatti R, Spinella P, De Palo CB, Woloszczuk W, Maragno I. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) fragments proANP (1–30) and proANP (31–67) measurements in chronic heart failure: A useful index for heart transplantation? *Clin Chim Acta.* 2001;310:49–52.
57. Maalouf R, Bailey S. A review on B-type natriuretic peptide monitoring: Assays and biosensors. *Heart Fail Rev.* 2016;21:567–78.
58. Fu S, Ping P, Wang F, Luo L. Synthesis, secretion, function, metabolism and application of natriuretic peptides in heart failure. *J Biol Eng.* 2018;12:2.
59. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med.* 2004;350:655–63.
60. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J.* 2016;37:2129–200.
61. Yancy CW, Jessup M, Bozkurt B, Butler J, Casey DE, Drazner MH, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: A report of the American college of cardiology foundation/american heart association task force on practice guidelines. *J Am Coll Cardiol.* 2013;62:e147–239.
62. Daniels LB, Maisel AS. Natriuretic Peptides. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:2357–68.
63. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shirakami G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart: Production in the ventricle. *Hypertension.* 1991;17 Suppl S2:1152–6.

64. Cui K, Huang W, Fan J, Lei H. Midregional pro-atrial natriuretic peptide is a superior biomarker to N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure patients with preserved ejection fraction. *Medicine*. 2018;97:e12277.
65. Gill D, Seidler T, Troughton RW, Yandle TG, Frampton CM, Richards M, et al. Vigorous response in plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-BNP) to acute myocardial infarction. *Clin Sci*. 2004;106:135–9.
66. Chang KW, Hsu JC, Toomu A, Fox S, Maisel AS. Clinical applications of biomarkers in atrial fibrillation. *Am J Med*. 2017;130:1351–7.
67. Ocak T, Erdem A, Duran A, Tekelioglu ÜY, Öztürk S, Ayhan SS, et al. The diagnostic significance of NT-proBNP and troponin I in emergency department patients presenting with palpitations. *Clinics*. 2013;68:543–7.
68. Qi W, Kjekshus H, Klinge R, Kjekshus JK, Hall C. Cardiac natriuretic peptides and continuously monitored atrial pressures during chronic rapid pacing in pigs. *Acta Physiol Scand*. 2000;169:95–102.
69. Randhawa MS, Dhillon AS, Taylor HC, Sun Z, Desai MY. Diagnostic utility of cardiac biomarkers in discriminating takotsubo cardiomyopathy from acute myocardial infarction. *J Card Fail*. 2014;20:2–8.
70. Nessmith MG, Fukuta H, Brucks S, Little WC. Usefulness of an elevated B-type natriuretic peptide in predicting survival in patients with aortic stenosis treated without surgery. *Am J Cardiol*. 2005;96:1445–8.
71. Clerico A, Giannoni A, Vittorini S, Emdin M. The paradox of low BNP levels in obesity. *Heart Fail Rev*. 2012;17:81–96.
72. Wang TJ. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation*. 2011;123:551–65.
73. van Kimmenade RR, Januzzi JL Jr. The evolution of the natriuretic peptides – Current applications in human medicine. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab*. 2009;5:414–24.
74. Bayes-Genis A, Lloyd-Jones DM, van Kimmenade RR, Lainchbury JG, Richards AM, Ordonez-Llanos J, et al. Effect of body mass index on diagnostic and prognostic usefulness of NT-proBNP in patients with acute heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:2050–7.
75. Conen, D.; Zeller, A.; Pfisterer, M.; Martina, B. Usefulness of b-type natriuretic peptide and c-reactive protein in predicting the presence or

absence of left ventricular hypertrophy in patients with systemic hypertension. *Am. J. Cardiol.* 2006, 97, 249–252.

76. de Vito, P. Atrial natriuretic peptide: An old hormone or a new cytokine? *Peptides* 2014, 58, 108–116.

77. Szabó, G. Biology of the B-Type Natriuretic Peptide: Structure, Synthesis and Processing. *Biochem. Anal. Biochem.* 2012, 1, 8–10.

78. Khalifeh N, Haider D, Hörl WH. Natriuretic peptides in chronic kidney disease and during renal replacement therapy: An update. *J Investig Med.* 2009;57(1):33-9.

79. Yildiz R, Yildirim B, Karıncaoglu M, Harputluoglu M, Hilmioglu F. Brain natriuretic peptide and severity of disease in non-alcoholic cirrhotic patients. *J Gastroenterol Hepatol.* 2005;20(7):1115-20.

80. Lok BY, Mukerjee D, Timms PM, Ashrafian H, Coghlan JG. Natriuretic peptides, respiratory disease, and the right heart. *Chest.* 2004;126(4):1330-6.

81. Kato J, Etoh T, Kitamura K, Eto T. Atrial and brain natriuretic peptides as markers of cardiac load and volume retention in primary aldosteronism. *Am J Hypertens.* 2005;18(3):354-7.

82. Totsune K, Takahashi K, Murakami O, Satoh F, Sone M, Ohneda M, et al. Immunoreactive brain natriuretic peptide in human adrenal glands and adrenal tumors. *Eur J Endocrinol.* 1996;135(3):352-6.

83. Wei T, Zeng C, Tian Y, Chen Q, Wang L. B-type natriuretic peptide in patients with clinical hyperthyroidism. *J Endocrinol Investig.* 2005;28(1):8-11.

84. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PWF, et al. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol.* 2002;90(3):254-8.

85. Acher R, Chauvet J, Rouille Y. Dynamic processing of neuropeptides: Sequential conformation shaping of neurohypophysial preprohormones during intraneuronal secretory transport. *J Mol Neurosci.* 2002;18(3):223-8.

86. Christ-Crain M. Vasopressin and copeptin in health and disease. *Rev Endocr Metab Disord.* 2019;20(3):283-94.

87. Dietzen DJ. Amino acids, peptides, and proteins. In: Rifai N, Horvath AR, Wittwer CT, Park JY, editors. *Principles and applications of molecular diagnostics.* Amsterdam: Elsevier; 2018. p. 345-80.

88. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem.* 2006;52(1):112-9.
89. Lotze U, Lemm H, Heyer A, Müller K. Combined determination of highly sensitive troponin T and copeptin for early exclusion of acute myocardial infarction: First experience in an emergency department of a general hospital. *Vasc Health Risk Manag.* 2011;7:509-15.
90. Balmelli C, Meune C, Twerenbold R, Reichlin T, Rieder S, Drexler B, et al. Comparison of the performances of cardiac troponins, including sensitive assays, and copeptin in the diagnostic of acute myocardial infarction and long-term prognosis between women and men. *Am Heart J.* 2013;166(1):30-7.
91. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L, Ojeda FM, et al. Copeptin improves early diagnosis of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55(19):2096-106.
92. Thibonnier M. Vasopressin receptor antagonists in heart failure. *Curr Opin Pharmacol.* 2003;3(6):683-7.
93. Neuhold S, Huelsmann M, Strunk G, Struck J, Adlbrecht C, Gouya G, et al. Prognostic value of emerging neurohormones in chronic heart failure during optimization of heart failure-specific therapy. *Clin Chem.* 2010;56(1):121-6.
94. Dobsa L, Edozien CK. Copeptin and its potential role in diagnosis and prognosis of various diseases. *Biochem Med.* 2012;23(2):172-90.
95. Das UN. Heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) and coronary heart disease. *Indian Heart J.* 2016;68(1):16-8.
96. Chmurzynska A. The multigene family of fatty acid-binding proteins (FABPs): Function, structure and polymorphism. *J Appl Genet.* 2006;47(1):39-48.
97. Liebetrau C, Nef HM, Dörr O, Gaede L, Hoffmann J, Hahnel A, et al. Release kinetics of early ischaemic biomarkers in a clinical model of acute myocardial infarction. *Heart.* 2014;100(9):652-7.
98. Colli A, Josa M, Pomar JL, Mestres CA, Gherli T. Heart fatty acid binding protein in the diagnosis of myocardial infarction: Where do we stand today? *Cardiology.* 2007;108(1):4-10.

99. Cappellini F, Da Molin S, Signorini S, Avanzini F, Saltafossi D, Falbo R, et al. Heart-type fatty acid-binding protein may exclude acute myocardial infarction on admission to emergency department for chest pain. *Acute Card Care*. 2013;15(4):83-7.
100. Dupuy AM, Cristol JP, Kuster N, Reynier R, Lefebvre S, Badiou S, et al. Performances of the heart fatty acid protein assay for the rapid diagnosis of acute myocardial infarction in ED patients. *Am J Emerg Med*. 2015;33(3):326-30.
101. Xu LQ, Yang YM, Tong H, Xu CF. Early diagnostic performance of heart-type fatty acid binding protein in suspected acute myocardial infarction: Evidence from a meta-analysis of contemporary studies. *Heart Lung Circ*. 2018;27(5):503-12.
102. Ho SK, Wu YW, Tseng WK, Leu HB, Yin WH, Lin TH, et al. The prognostic significance of heart-type fatty acid binding protein in patients with stable coronary heart disease. *Sci Rep*. 2018;8:14410.
103. Otaki Y, Arimoto T, Takahashi H, Kadowaki S, Ishigaki D, Narumi T, et al. Prognostic value of myocardial damage markers in patients with chronic heart failure with atrial fibrillation. *Intern Med*. 2014;53(7):661-8.
104. Iida M, Yamazaki M, Honjo H, Kodama I, Kamiya K. Predictive value of heart-type fatty acid-binding protein for left ventricular remodelling and clinical outcome of hypertensive patients with mild-to-moderate aortic valve diseases. *J Hum Hypertens*. 2007;21(7):551-7.
105. Dellas C, Lobo JL, Rivas A, Ballaz A, Portillo AK, Nieto R, et al. Risk stratification of acute pulmonary embolism based on clinical parameters, H-FABP and multidetector CT. *Int J Cardiol*. 2018;265:223-8.
106. Morrow DA, Cannon CP, Jesse RL, Newby LK, Ravkilde J, Storrow AB, et al. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical characteristics and utilization of biochemical markers in acute coronary syndromes. *Circulation*. 2007;115(3):356-75.
107. Bunton DC, Petrie MC, Hillier C, Johnston F, McMurray JJV. The clinical relevance of adrenomedullin: A promising profile? *Pharmacol Ther*. 2004;103(3):179-201.
108. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bergmann A. Measurement of midregional proadrenomedullin in plasma with an immunoluminometric assay. *Clin Chem*. 2005;51(10):1823-9.

109. Ridker PM, Buring JE, Rifai N. Soluble P-Selectin and the risk of future cardiovascular events. *Circulation*. 2001;103(4):491–5.
110. Blasi F, Carmeliet P. uPAR: A versatile signalling orchestrator. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2002;3(12):932–43.
111. Jung RG, Motazedian P, Ramirez FD, Simard T, Di Santo P, Visintini S, Faraz MA, Labinaz A, Jung Y, Hibbert B. Association between plasminogen activator inhibitor-1 and cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *Thromb J*. 2018;16(1):12.
112. Rocco E, Grimaldi MC, Maino A, et al. Advances and challenges in biomarkers use for coronary microvascular dysfunction: from bench to clinical practice. *J Clin Med*. 2022;11:2055.
113. Ziaee M, Mashayekhi S, Ghaffari S, Mahmoudi J, Sarbakhsh P, Garjani A. Predictive value of endocan based on TIMI risk score on major adverse cardiovascular events after acute coronary syndrome. *Angiology*. 2019;70(10):952-9.
114. Kundi H, Balun A, Cicekcioglu H, Karayigit O, Topcuoglu C, Kilinckaya MF, et al. Admission endocan level may be a useful predictor for in-hospital mortality and coronary severity index in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Angiology*. 2017;68(1):46-51.
115. Yang RY, Rabinovich GA, Liu FT. Galectins: Structure, function and therapeutic potential. *Expert Rev Mol Med*. 2008;10:e17.
116. Yabluchanskiy A, Ma Y, Iyer RP, Hall ME, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase-9: Many shades of function in cardiovascular disease. *Physiology*. 2013;28(6):391-403.
117. Kormi I, Nieminen MT, Havulinna AS, Zeller T, Blankenberg S, Tervahartiala T, et al. Matrix metalloproteinase-8 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 predict incident cardiovascular disease events and all-cause mortality in a population-based cohort. *Eur J Prev Cardiol*. 2017;24(11):1136-44.
118. Blankenberg S, Rupprecht HJ, Poirier O, Bickel C, Smieja M, Hafner G, et al. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease. *Circulation*. 2003;107(12):1579-85.

119. Li M, Duan L, Cai YL, Li HY, Hao BC, Chen JQ, et al. Growth differentiation factor-15 is associated with cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease. *Cardiovasc Diabetol*. 2020;19(1):1-12.
120. Pascual-Figal DA, Januzzi JL. The biology of ST2: The international ST2 consensus panel. *Am J Cardiol*. 2015;115(3B-7B).
121. Ciccone MM, Cortese F, Gesualdo M, Riccardi R, Di Nunzio D, Moncelli M, et al. A novel cardiac biomarker: ST2: A review. *Molecules*. 2013;18(12):15314-28.
122. Vittos O, Toana B, Vittos A, Moldoveanu E. Lipoprotein-associated phospholipase A2 (Lp-PLA2): A review of its role and significance as a cardiovascular biomarker. *Biomarkers*. 2012;17(4):289-302.
123. Antoniades C, Bakogiannis C, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Stefanadis C. The CD40/CD40 ligand system. Linking inflammation with atherothrombosis. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(8):669-77.
124. Kansakar U, Varzideh F, Mone P, Jankauskas SS, Santulli G. Functional role of microRNAs in regulating cardiomyocyte death. *Cells*. 2022;11(7):983.
125. Carvalho A, Ji Z, Zhang R, Zuo W, Qu Y, Chen X, et al. Inhibition of miR-195-3p protects against cardiac dysfunction and fibrosis after myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2023; 387:131128.
126. Kumar S, Shih CM, Tsai LW, Dubey R, Gupta D, Chakraborty T, et al. Transcriptomic profiling unravels novel deregulated gene signatures associated with acute myocardial infarction: a bioinformatics approach. *Genes*. 2022;13(13):2321.
127. Bargieł W, Cierpiszewska K, Maruszczak K, Pakuła A, Szwankowska D, Wrzesinska A, et al. Recognized and potentially new biomarkers—their role in diagnosis and prognosis of cardiovascular disease. *Medicina (Kaunas)*. 2021;57(7):701.