

## Característica actual de los métodos para la determinación de troponinas cardíacas y su valor diagnóstico: minirrevisión

Current characteristics of methods for determining cardiac troponins and their diagnostic value: a mini-review

Característica atual dos métodos para a determinação de troponinas cardíacas e seu valor diagnóstico: minirrevisão

Aleksey Chaulin<sup>1,2</sup>

El trabajo presenta datos sobre los métodos para determinar y diagnosticar el valor de las troponinas cardíacas. El trabajo detalla el desarrollo histórico de los métodos de determinación de troponinas cardíacas, sus características analíticas y la comparación frente a los inmunoensayos de alta sensibilidad actuales. Además, se consideran los factores que influyen en la concentración de troponinas cardíacas y las posibilidades de determinación de troponinas cardíacas en fluidos biológicos no invasivos (orina y líquido oral). Este conocimiento tiene un papel importante para la medicina práctica y la dirección de investigaciones adicionales.

### Conceptos clave:

#### ¿Qué se sabe sobre el tema?

Hasta la fecha, las troponinas cardíacas (cTnI y cTnT) continúan siendo los biomarcadores más populares para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio (IAM); sin embargo, tienen una serie de desventajas: plazo relativamente largo para establecer el hecho de la muerte de cardiomiocitos, especificidad insuficiente para la necrosis isquémica de cardiomiocitos. Por lo tanto, cTnI y cTnT pueden considerarse biomarcadores específicos de daño celular miocárdico, pero no se los puede considerar biomarcadores específicos de IAM basándose únicamente en los resultados de los estudios de laboratorio para realizar este diagnóstico.

#### ¿Qué aporta este trabajo?

En este artículo se discuten las características analíticas clave de los métodos de detección de hs-cTnI y hs-cTnT en comparación con métodos moderadamente sensibles, e informa sobre nuevos datos biológicos y algunas nuevas posibilidades de diagnóstico para el uso de hs-cTnI y hs-cTnT en la práctica clínica moderna.

- 1- Samara. Regional Cardiology Dispensary, M.D. Russia, Самара.
- 2- Samara State Medical University, Samara. Russia.  
E-mail de contacto: [aleksevichailovich22976@gmail.com](mailto:aleksevichailovich22976@gmail.com)

Recibido: 2021-05-11 Aceptado: 2021-06-05

DOI: <http://dx.doi.org/10.31053/1853.0605.v78.n3.32988>



© Universidad Nacional de Córdoba

### Resumen:

La expansión y el descubrimiento de nuevas posibilidades de diagnóstico para el uso de muchos biomarcadores de enfermedades cardiovasculares (ECV), incluidas las isoformas de troponina cardioespecíficas (cTnI, cTnT), se debe a la mejora de los métodos de laboratorio para su determinación. A lo largo de una prolongada historia de la creación y mejora de métodos inmunoquímicos para la determinación de cTnI y cTnT, se observaron cambios significativos en el concepto de biología y su valor diagnóstico como biomarcadores de ECV. Los métodos obsoletos de detección de cTnI, cTnT, llamados de sensibilidad baja y moderada, se distinguieron por una sensibilidad relativamente baja, lo que llevó a la confirmación tardía del diagnóstico de infarto agudo de miocardio (IAM) y, por lo tanto, dichos métodos fueron reemplazados gradualmente por nuevos métodos de alta y moderada sensibilidad, como definiciones de métodos ultrasensibles (hs-cTnI, hs-cTnT). Con la introducción de hs-cTnI y hs-cTnT en la práctica clínica, la posibilidad de diagnóstico precoz y exclusión del IAM mediante la evaluación de la cinética de la concentración de hs-cTnI y hs-cTnT en las primeras horas (0-1 hora, 0-2 horas, 0-3 horas) desde el momento en que el paciente ingresa a urgencias. Además, algunas de nuestras ideas sobre la biología de las troponinas cardíacas han cambiado, y han surgido nuevas oportunidades prometedoras para su uso en medicina. En este artículo se discuten las características analíticas clave de los métodos de detección de hs-cTnI y hs-cTnT en comparación con métodos moderadamente sensibles, e informa sobre nuevos datos biológicos y algunas nuevas posibilidades de diagnóstico para el uso de hs-cTnI y hs-cTnT en la práctica clínica moderna.

**Palabras claves:** *hs-cTnI, hs-cTnT; métodos inmunoquímicos de determinación; diagnóstico; infarto agudo de miocardio; diagnóstico no invasivo*

### Abstract:

The expansion and discovery of new diagnostic possibilities for the use of many biomarkers of cardiovascular diseases (CVDs), including cardio-specific troponin isoforms (cTnI, cTnT), is due to improved laboratory methods for their determination. Throughout a long history of the creation and improvement of immunochemical methods for the determination of cTnI and cTnT, significant changes were observed in the concept of biology and its diagnostic value as CVD biomarkers. The obsolete methods of detection of cTnI, cTnT, named low sensitivity and moderate, were distinguished by a relatively low sensitivity, which led to the confirmation late in the diagnosis of acute myocardial infarction (AMI) and, therefore, such methods were gradually replaced by new methods of high and moderate sensitivity, such as definitions of methods, ultra-sensitive (hs-cTnI, hs-cTnT). With the introduction of hs-cTnI and hs-cTnT in clinical practice, the possibility of early diagnosis and exclusion of AMI through the evaluation of the kinetics of the concentration of hs-cTnI and hs-cTnT in the first hours (0-1 hour, 0-2 hours, 0-3 hours) from the moment the patient enters the emergency room. In addition, some of our ideas about the biology of cardiac troponins have changed, and promising new opportunities for their use in medicine have emerged. This manuscript analyzes the key analytical characteristics of hs-cTnI and hs-cTnT detection methods compared to moderately sensitive methods, and reports on new biological data and some new diagnostic possibilities for the use of hs-cTnI and hs-cTnT in modern clinical practice.

**Keywords:** *hs-cTnI, hs-cTnT; immunochemical methods of determination; diagnostics; acute myocardial infarction; non-invasive diagnostics*

### Resumo

A expansão e descoberta de novas possibilidades de diagnóstico para o uso de muitos biomarcadores de doenças cardiovasculares (DCV), incluindo isoformas cardioespecíficas de troponina (cTnI, cTnT), é devido à melhoria dos métodos laboratoriais para sua determinação. Ao longo de uma longa história da criação e melhoria de métodos imunológicos para a determinação de cTnI e cTnT, mudanças significativas foram observadas no conceito de biologia e seu valor diagnóstico como biomarcadores de DCV. Os métodos obsoletos de detecção de cTnI, cTnT, chamados de baixa e moderada sensibilidade, foram distinguidos por uma sensibilidade relativamente baixa, o que levou à confirmação tardia do diagnóstico de infarto agudo de miocárdio (IAM) e, portanto, esses métodos foram gradualmente substituídos por novos métodos de alta e moderada sensibilidade, como definições de métodos ultra-sensíveis (hs-cTnI, hs-cTnT). Com a introdução de hs-cTnI e hs-cTnT na prática clínica, a possibilidade de diagnóstico precoce e exclusão do IAM mediante a avaliação da cinética da concentração de hs-cTnI e hs-cTnT nas primeiras horas (0-1 hora, 0-2 horas, 0-3 horas) desde o momento em que o paciente entra em urgências. Além disso, algumas de nossas ideias sobre a biologia das troponinas cardíacas mudaram e surgiram novas oportunidades promissoras para uso em medicina. Este artigo discute as principais características analíticas dos métodos de detecção de hs-cTnI e hs-cTnT em comparação com métodos moderadamente sensíveis, e relata novos dados biológicos e algumas novas possibilidades de diagnóstico para o uso de hs-cTnI e hs-cTnT na prática clínica moderna.

**Palavras-chave:** *hs-cTnI, hs-cTnT; métodos imunológicos de determinação; diagnóstico, infarto agudo do miocárdio; diagnóstico não invasivo*

## INTRODUCCIÓN

El complejo de troponina del músculo estriado cardíaco humano consta de tres proteínas (cTnI, cTnT y cTnC), que normalmente regulan los procesos de contracción óptima y relajación del miocardio [1-3]. La estructura (composición de aminoácidos) de las proteínas troponínicas del miocardio determina el funcionamiento de todo el miocardio. Se ha encontrado un gran número de mutaciones menores (por el tipo de sustitución o delección de uno o varios nucleótidos) que, sin embargo, provocan alteraciones importantes en el funcionamiento del miocardio y son responsables del desarrollo de miocardiopatías [3-5]. La composición de aminoácidos de dos de las tres proteínas troponínicas de miocardio (cTnI, cTnT) difiere de la estructura de la troponina del músculo estriado esquelético, mientras que la composición de aminoácidos de la subunidad de unión al calcio (troponina C) es similar a la del músculo esquelético. Las troponinas cardioespecíficas (cTnI, cTnT) se localizan principalmente en el miocardio, pero al mismo tiempo, hay evidencia de expresión de troponina en el tejido muscular estriado, así como en la pared de la vena cava y las venas pulmonares [6-12]. Por este motivo, todavía no pueden considerarse biomarcadores cardioespecíficos absolutos.

El contenido total de cTnI y cTnT en el miocardio humano es de 4.0-6.0 mg y de 10.0-11.0 mg por 1 g de peso de tejido húmedo, respectivamente. La mayor parte de las troponinas (aproximadamente el 95%) está contenida en el complejo troponina-tropomiosina (aparato contráctil) y regula la función contráctil, mientras que aproximadamente un 5% de las proteínas troponínicas se encuentran libremente en el citosol de los cardiomiocitos y no participan en la función contráctil del miocardio [13, 14].

Hasta la fecha, las troponinas cardíacas (cTnI y cTnT) continúan siendo los biomarcadores más populares para el diagnóstico del infarto agudo de miocardio (IAM); sin embargo, tienen una serie de desventajas: plazo relativamente largo para establecer el hecho de la muerte de cardiomiocitos, especificidad insuficiente para la necrosis isquémica de cardiomiocitos. Por lo tanto, cTnI y cTnT pueden considerarse biomarcadores específicos de daño celular miocárdico, pero no se los puede considerar biomarcadores específicos de IAM basándose únicamente en los resultados de los estudios de laboratorio para realizar este diagnóstico. El aumento del nivel de troponinas en las primeras etapas de los procesos patológicos (IAM, miocarditis, etc.) tampoco permite diferenciar el daño irreversible del reversible, ya que la concentración de troponinas en las primeras fases es baja y puede estar asociada a su fracción citosólica. Los cardiomiocitos pueden dañarse a causa de muchas afecciones fisiológicas (actividad física, estrés psicoemocional) y patológicas (miocarditis, sepsis, insuficiencia renal, tratamiento quimioterápico del cáncer, etc.) que no están asociadas al IAM, lo que, por un lado, aporta oportunidades de diagnóstico adicionales, pero, por otro lado, puede complicar el diagnóstico diferencial de IAM de estas condiciones [15-18]. Los mecanismos de daño de los cardiomiocitos y el consiguiente aumento del nivel de troponinas en estas condiciones no se han detectado inequívocamente; la dinámica (cinética) de concentración, por regla general, es inespecífica y puede ser similar a la cinética en el IAM. Es muy probable que los mecanismos de daño sean múltiples y complejos. Por ejemplo, en la sepsis, se observaron tanto un efecto dañino directo de las citocinas inflamatorias como un aumento en la demanda de oxígeno del miocardio, lo cual es algo similar a los mecanismos de desarrollo del infarto de miocardio de tipo 2. En la insuficiencia renal, el mecanismo responsable del crecimiento de las troponinas en suero, según algunos datos, es la disminución de la tasa de filtración glomerular [18, 19], y según otros, el efecto dañino directo de los productos metabólicos tóxicos acumulados y la activación de la expresión de troponinas cardíacas en los músculos esqueléticos [9, 19, 20]. En condiciones fisiológicas específicas, por ejemplo, actividad física prolongada, estrés psicoemocional o episodios transitorios de isquemia, el daño de los cardiomiocitos suele ser reversible, y el nivel de troponinas en el suero aumenta debido a la liberación de aquellas

troponinas que se encuentran libremente ubicadas en el cardiomiocito. Al mismo tiempo, bajo cargas muy pesadas y prolongadas, por ejemplo, al correr un maratón, el nivel de troponinas aumenta diez veces, lo que puede indicar daño irreversible (destrucción y liberación de troponinas del aparato contráctil) y muerte de cardiomiocitos.

El desarrollo e implementación de métodos altamente sensibles para la determinación de troponinas (hs-cTnI y hs-cTnT) han ampliado significativamente las capacidades de diagnóstico y las perspectivas para el uso de estos biomarcadores [21-23]. Como regla general, se considera signo de pronóstico desfavorable un aumento de la concentración de hs-cTnI y hs-cTnT > percentil 99 de la concentración de troponina, el cual se detecta en el 99% de los individuos verdaderamente sanos y sólo en un 1% de las personas examinadas verdaderamente sanas se admite un resultado aumentado.

Utilizando métodos altamente sensibles, se descubrió que la concentración de troponinas depende de las características biológicas: sexo, edad y ritmos circadianos [21-29]. Por tanto, el nivel de troponinas cardioespecíficas en los hombres es más alto que en las mujeres, lo cual se recomienda utilizarlo para establecer los valores del percentil 99, utilizado en los algoritmos de diagnóstico modernos para el diagnóstico de IAM [26, 27]. El nivel más alto de troponinas cardíacas se explica por el hecho de que la masa de su ventrículo izquierdo es mayor que la de las mujeres [27]. Las características del nivel de troponina relacionadas con la edad son que en los pacientes de edad avanzada su concentración es más alta que en los jóvenes. Se supone que esto puede deberse a la presencia de comorbilidad, que puede afectar negativamente a los cardiomiocitos [21, 22]. Además, el nivel de troponina T es ligeramente más alto por la mañana que por la noche tanto en pacientes sanos [22, 28] como en pacientes con insuficiencia renal [29]. Mecanismos exactos de formación de las características circadianas de la concentración de troponinas cardíacas no se han detectado, pero se puede suponer que esto se debe a las características circadianas de otros sistemas humanos, que en un grado u otro afectan el sistema cardiovascular, en particular, con la activación de los sistemas simpatoadrenal y renina-angiotensina-aldosterona, aumento de la frecuencia cardíaca y la presión arterial, así como con la activación del sistema de hemostasia. Estas características se han desarrollado evolutivamente y son necesarias para una persona sana durante la vigilia, sin embargo, pueden tener un efecto adverso adicional en presencia de factores de riesgo adicionales (por ejemplo, aterosclerosis) y enfermedades cardiovasculares crónicas (angina de pecho, ataques isquémicos transitorios) [30]. Las características etáreas y circadianas del nivel de troponinas cardíacas no han sido estudiadas suficientemente, datos disponibles sobre este tema son contradictorios, por lo cual aún no han encontrado su uso en la práctica habitual. Por ejemplo, el estudio de van der Linden [29] informó un efecto pronunciado de los ritmos circadianos de hs-cTnT en el diagnóstico temprano del infarto de miocardio, mientras que, según otro estudio de Klinkenberg [31], los ritmos circadianos de hs-cTnT no tienen un efecto significativo sobre los algoritmos de diagnóstico precoz del IAM. Al analizar el diseño de estos dos estudios, contradictorios en cuanto a la importancia clínica de los ritmos circadianos de hs-cTnT, se pueden observar algunas diferencias en las características clínicas de los pacientes. En particular, el grado de fluctuaciones diurnas en los niveles de hs-cTnT en el estudio de van der Linden parece haber sido influenciado por una enfermedad concomitante, la insuficiencia renal crónica.

El principal fluido biológico para determinar los niveles de troponina es la sangre. Sin embargo, con el advenimiento de métodos altamente sensibles, se hizo posible determinar troponinas en otros fluidos biológicos que se pueden obtener de forma no invasiva, lo cual es otra ventaja importante y prometedora. La obtención de este biomaterial de los pacientes es atraumática e indolora, reduce el riesgo de desarrollo de infecciones de transmisión sanguínea (VIH, hepatitis viral, etc.); tampoco requiere personal médico capacitado, y el propio paciente puede tomar su biomaterial en su domicilio. Por ejemplo, las

concentraciones de troponinas en la orina son bastante pequeñas y no son detectadas por sistemas de prueba moderadamente sensibles, mientras que, al utilizar el método de investigación altamente sensible, hs-TnT se detectó en la orina de la mañana de todos los individuos investigados, y en la orina de los pacientes con hipertensión los niveles de hs-TnT fueron significativamente más altos que en pacientes con presión arterial normal [31]. El líquido oral es otro biomaterial no invasivo prometedor para el diagnóstico de muchas enfermedades endocrinas, oncológicas y cardiovasculares, incluido el IAM [32-35]. Así, en nuestro estudio piloto unicéntrico, se demostró recientemente que la concentración de hs-cTnI en el líquido oral en pacientes con IAM es significativamente mayor que en el grupo de control de pacientes, y los niveles de hs-cTnI en el suero sanguíneo y el líquido oral tienen una correlación moderada [34]. Se planean más estudios sobre muestras de pacientes más grandes para establecer valores de referencia y estandarizar la etapa preanalítica para aumentar el valor clínico y diagnóstico de hs-cTnI en el líquido oral.

#### **Métodos de determinación de troponinas cardíacas: una breve historia del desarrollo de inmunoensayos de troponina**

La determinación de troponinas en la sangre se lleva a cabo utilizando varios métodos inmunoquímicos diferentes (radioinmunoensayo, inmunoensayo enzimático, análisis de inmunofluorescencia e inmunoquimioluminiscencia), cuyo principio fundamental incluye varias etapas sucesivas: la inmunológica, la química, la de detección. En la primera etapa (inmunológica) se produce interacción específica de los anticuerpos de diagnóstico de un kit comercial con un antígeno, que en este caso es la troponina. En la segunda y tercera etapas, o se produce una reacción inmunológica adicional de anticuerpos y la formación de un complejo tipo sándwich, o una reacción química (enzimática) y el registro de la señal recibida. Los métodos de detección de señales también difieren según el marcador de anticuerpos utilizado: en el caso de un inmunoensayo enzimático, se evalúa la intensidad del color utilizando un fotómetro / espectrofotómetro; en el caso del radioinmunoensayo, en que se usan como marca radioisótopos (radionúclidos), se evalúa con un radiómetro (radio espectrómetro), y en el caso de usar fluoróforos, la señal se registra en un fluorómetro. El nivel (fuerza) de la señal desarrollada es directamente proporcional a la concentración de troponinas en la muestra biológica. El resultado se expresa con mayor frecuencia en valores cuantitativos (ng / ml, ng / L, µg / L), o se lleva a cabo es una evaluación visual del número de tiras formadas, lo cual es típico de los métodos cualitativos (tiras de prueba de diagnóstico) utilizado al lado de la cama del paciente.

El desarrollo de métodos de análisis inmunológico para la determinación de troponinas cardíacas comenzó hace casi 35 años caracterizándose por una mejora gradual de los parámetros analíticos y, como resultado, de las capacidades de diagnóstico. El primer método para la determinación de la troponina I cardíaca, que se basó en radioinmunoensayo, se desarrolló en 1987. Tenía el umbral de detección de 10 µg / L (10,000 ng / L) y el tiempo de ejecución fue bastante largo (1-2 días). Debido a la baja sensibilidad y duración del estudio, el tiempo para detectar concentraciones de troponina en la sangre relevantes para el diagnóstico, fue tardío, y este método solo podía revelar infarto de miocardio extenso, por lo cual la troponina I fue significativamente inferior a la enzima creatina quinasa-MB (CK-MB) utilizada activamente en aquel entonces, considerándose el "estándar de oro" para el diagnóstico de IAM [36, 37]. Unos años más tarde, Katus y sus colegas presentaron el primer ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) completamente automatizado para la determinación de troponina T con límite de detección de 100 ng / L y tiempo de análisis de 90 minutos. Las concentraciones máximas de troponina T se correlacionaron con las concentraciones máximas de CK-MB. Este inmunoensayo, también llamado método de "ensayo de primera generación", fue superior a los biomarcadores estándar utilizados en aquel momento para diagnosticar el IAM [38]. Sin embargo, este método tenía un inconveniente importante, que consistía en la reacción cruzada

de anticuerpos de diagnóstico con isoformas de troponina características para los músculos esqueléticos, un alto porcentaje de resultados positivos en enfermedades de los músculos esqueléticos (miopatías), y un esfuerzo físico intenso (durante la carrera de maratón); también se seguía considerando que otra desventaja era la baja sensibilidad. Los métodos de segunda generación se caracterizaron por una mayor especificidad y sensibilidad, lo que se reflejó en una disminución de la reactividad cruzada con las troponinas esqueléticas y la posibilidad de un diagnóstico más temprano de IAM (en promedio, 6-12 horas después de su desarrollo). La medición de los niveles de troponina en pacientes con IAM superó el uso de todos los demás biomarcadores disponibles (CK-MB, lactato deshidrogenasa, aspartato aminotransferasa), y en 2000 un documento conjunto de las Sociedades Europea y Americana de Cardiología recomendó el uso de troponina T para el diagnóstico de IAM [39]. La posterior mejora de los métodos de determinación y el desarrollo de análisis de "tercera" y "cuarta generación" eliminaron por completo la reactividad cruzada, mejoraron las características analíticas, incluido el límite de detección (concentración mínima detectable), el tiempo de análisis se redujo aproximadamente a la mitad, y la ventaja en el diagnóstico del IAM finalmente pasó de SK-MB a las troponinas [39, 40]. La desventaja de tales métodos moderadamente sensibles todavía se consideraba una baja sensibilidad y un tiempo promedio prolongado requerido para el diagnóstico de laboratorio preciso del IAM (detección de niveles de troponinas cardíacas en la sangre de relevancia diagnóstica), fue de 6 a 12 horas desde el momento de desarrollo del cuadro clínico del IAM. En 2007-2009, aparecieron los primeros informes sobre métodos de análisis altamente sensibles ("quinta generación"), cuyo umbral de detección es de 1 a 10 ng / L, lo cual decenas y cientos de veces supera los métodos de sensibilidad moderada y miles de veces - los prototipos de hace 30 años, mientras el tiempo de análisis es de tan solo 20-30 minutos [41-43].

Desde el primer prototipo desarrollado por Cummins (1987) los inmunoensayos de troponina I han evolucionado de manera similar. En 1992, anticuerpos monoclonales se utilizaron para desarrollar el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas: el límite de detección fue de 1900 ng / L y el tiempo de ejecución del estudio fue de 3,5 horas. A diferencia de los métodos entonces existentes para determinar la troponina T, este análisis fue altamente específico para detectar daño miocárdico. Y los resultados positivos falsos prácticamente no se observaron incluso en condiciones de enfermedades del músculo esquelético (miopatías), insuficiencia renal crónica y maratón [36, 44]. Durante los últimos 25 años, los investigadores y fabricantes han desarrollado varios ensayos con diferentes combinaciones de anticuerpos en múltiples plataformas. Actualmente están presentes en el mercado más de 30 kits de determinación de troponina I. Los métodos disponibles van desde los modelos más antiguos y menos sensibles hasta modernos, de alta sensibilidad y ultrasensibilidad. Debido a la heterogeneidad de los métodos de análisis de cTnI, los resultados cuantitativos obtenidos para el mismo paciente utilizando diferentes métodos y en diferentes analizadores (dispositivos) no coinciden. La estandarización de los métodos de determinación de cTnI basados en diferentes plataformas sigue siendo un desafío y es uno de los principales problemas [45]. Por lo tanto, si es necesario trasladar a un paciente a otro hospital que utilice un sistema de prueba diferente, los resultados de la determinación de troponina no se puede compararlos, ya que el proceso se acompaña de costos económicos y de tiempo adicionales. Según la Federación Internacional de Química Clínica (IFCC), entre los kits de prueba para análisis altamente sensibles los más disponibles y populares comercialmente son kits de las siguientes empresas: Abbot, Beckman Coulter, bioMerieux, LSI Medience, Roche, Ortho, Siemens, Singulex, etc. [45, 46] De éstos, kits para la determinación de hs-TnT son producidos únicamente por Roche, todos los demás producen kits para hs-TnI. Un gran inconveniente de estas pruebas es la falta de estandarización, que se expresa en diferentes resultados en el mismo paciente al determinarse mediante diferentes kits comerciales, y los resultados pueden diferir entre 5 y 10 veces o más. Esto se debe, en

primer término, al hecho de que diferentes kits utilizan diferentes anticuerpos dirigidos a diferentes epítomos (determinantes antigénicos) de las moléculas de troponina: con el IAM, en mayor medida en la sangre circulan los fragmentos de troponina que poseen diferente estabilidad. Por tanto, el uso de anticuerpos dirigidos contra epítomos de troponina inestables conducirá a una subestimación de los resultados en comparación con los anticuerpos contra sectores estables de la molécula. Al mismo tiempo, algunos epítomos de las moléculas de troponina son blancos de autoanticuerpos y anticuerpos heterófilos, siendo estos últimos capaces de producir resultados tanto falsos positivos como falsos negativos. En esta dirección, se continúa investigando para esclarecer los mecanismos de influencia en el resultado del análisis (interferencia), lo que contribuirá a mejorar la calidad y estandarización de los análisis.

Hasta la fecha, muchas instituciones de salud han pasado al uso de sistemas de prueba de troponina altamente sensibles. Anand A y sus colegas realizaron recientemente un estudio global para evaluar la implementación de las recomendaciones clave de la Definición Universal de Infarto de Miocardio (2018) sobre el uso de troponinas altamente sensibles utilizando un cuestionario telefónico de formato especialmente diseñado. Los autores entrevistaron a médicos en 1902 centros médicos en 23 países de los 5 continentes. La troponina cardíaca se utilizó como marcador diagnóstico principal para diagnosticar IAM en un 96% de los centros; el uso de CK-MB continúa en algunos países de América Latina (Argentina, México). Solo un 41% de los centros utilizaron ensayos de alta sensibilidad, con una amplitud desde un 7% en América del Norte hasta un 60% en Europa. En las instituciones que utilizaron métodos de análisis altamente sensibles, se utilizó con más frecuencia la estrategia de medición en serie con predominio de vías de diagnóstico aceleradas (0-3 h), tomándose en cuenta con mayor frecuencia el umbral de diagnóstico del percentil 99; sin embargo, solo un 18 % de los centros utilizaron los umbrales del percentil 99 asociados con las características de sexo/género [47].

**Métodos altamente sensibles para la determinación de troponinas: sus características analíticas, criterios, clasificación.**

Las principales características analíticas de la calidad de los inmunoensayos de troponina son: límite del blanco (LoB) — la concentración máxima del analito que se puede detectar en una muestra que no lo contiene; límite de detección (LoD) — la concentración mínima detectable; límite de determinación cuantitativa (sensibilidad funcional, LoQ); percentil 99, características de género del percentil 99, porcentaje de valores medibles en individuos sanos, coeficiente de variación (% CV), relación de 99 percentil / LoD [24, 48, 49]. Muchos investigadores tienen una inquietud: ¿qué análisis debería calificarse como altamente sensible? El Grupo de Trabajo de la IFCC del Comité de Aplicación Clínica de Biomarcadores Cardíacos (TF-CB IFCC) ha propuesto que sea designado como altamente sensible un método que cumpla dos criterios [24]. Primero, el porcentaje de CV al establecerse los valores del percentil 99, no debe exceder a un 10%. En segundo lugar, en más del 50% de las personas sanas, la concentración de troponinas debería ser superior al LoD del método analítico.

Sin embargo, muchos de los métodos designados como altamente sensibles no se ajustan a estos criterios. Para los análisis HS, todas las revistas, fabricantes, laboratorios e instituciones deben utilizar la unidad de medición ng / L para evitar confusiones y puntos decimales seguidos de ceros innecesarios utilizados en análisis moderadamente sensibles y algunos análisis modernos de alta sensibilidad [24].

El valor clínico y diagnóstico de los resultados de la determinación de hs-TnT y hs-TnI está directamente relacionado con las características analíticas de los diagnósticos de troponina utilizados (tabla 1). Para establecer los parámetros analíticos del sistema de prueba, se deben seguir las recomendaciones de los expertos de la IFCC. Entonces, por ejemplo, para establecer los valores del percentil 99 de acuerdo con el género, es necesario determinar la troponina en al menos 300 mujeres y 300 hombres. Posteriormente, se pueden ajustar cuando se reciban

nuevos datos, e idealmente, cada laboratorio debe establecer su propio percentil 99, que en este caso corresponderá no solo al sistema de prueba y al analizador utilizado, sino también a las características de la población dada. Sin embargo, dada la complejidad y el costo de tales estudios, es admisible centrarse en los parámetros proporcionados por los fabricantes [24, 50]. Establecer valores óptimos para el percentil 99 es muy importante e implica una serie de preguntas clave: ¿cómo se deben seleccionar los grupos de referencia? ¿Qué método de cálculo estadístico debería aplicarse? La definición de lo que constituye una persona sana es un tema a discutir [24]. ¿Cómo se deben seleccionar los pacientes por edad: jóvenes (<30 años) o aquellos que coinciden con los pacientes con IAM clásico (40-90 años)? ¿Qué criterios deben utilizarse para designar a los pacientes "sanos", utilizando una encuesta simple (cuestionario) o un examen médico completo, que incluya estudios tanto físicos como instrumentales de laboratorio (electrocardiografía, ecocardiografía, determinación de la concentración de péptidos natriuréticos, nivel de creatinina)? La última opción es ideal, pero cara. La selección del grupo de control de acuerdo con criterios estrictos desplaza el percentil 99 a valores más bajos [24, 50]. Además, al calcular el percentil 99, es necesario un enfoque estadístico unificado. Los cálculos propuestos - el método no paramétrico (método de Harrell-Davis) y el método de estadística robusta (estable) - dan diferentes valores del percentil 99. Discusiones sobre este tema continúan [50, 51]. Así, las condiciones anteriormente señaladas tienen una fuerte influencia sobre el establecimiento del nivel del percentil 99, lo cual viene siendo una de las explicaciones de su significativa variación entre los métodos de análisis de diferentes fabricantes.

Al mismo tiempo, algunos algoritmos nuevos de diagnóstico rápido (de una y dos horas) no se centran en el nivel del percentil 99 como umbral de diagnóstico de referencia, sino que utilizan valores de corte más bajos para tomar decisiones sobre hospitalización / intervenciones invasivas, o de enviar al paciente a casa. Esto se debe a que muchos pacientes con concentraciones de hs-Tn que van desde el LoD (o LoQ) al percentil 99, tienen un mayor riesgo de resultados adversos en comparación con aquellos con valores mínimos o no detectables (es decir, <LoD o LoQ). El éxito de estas estrategias se ha demostrado en varios estudios para excluir rápidamente el síndrome coronario agudo e identificar a los pacientes con elevado riesgo de eventos cardiovasculares adversos a los 30 días [52-59].

Muy importante en el diagnóstico temprano de IAM es LoD. Por ejemplo, el método de inmunoensayo de primera y segunda generación tuvo un LoD en el rango de 100-500 ng / L, debido a que el IAM se diagnosticó demasiado tarde (después de 12-24 horas), en algunos casos, se pasaron por alto infartos de foco pequeño y no se detectó troponina en ningún paciente sano (0% de los valores medidos en la población de referencia). En la etapa actual de desarrollo de análisis altamente sensibles, LoD puede ser solo de unos pocos ng / L e incluso <1 ng / L, lo que es cientos de veces más sensible y permite detectar daño miocárdico casi a nivel de células individuales; el porcentaje de valores medidos de troponinas oscila entre el 50 y el 100% [24]. García-Osuna A, et al. recientemente estudiaron las características analíticas del nuevo método que detecta la troponina I a nivel de moléculas individuales. El estudio mostró que este método es aproximadamente 10 veces más sensible que el método de hs-Tn I que se utiliza actualmente. El LoD de este método fue de 0.08-0.12 ng / L, y la proporción de personas sanas con concentraciones de troponina medibles alcanzó el 99.5%. Al mismo tiempo, los sujetos sanos fueron seleccionados de manera muy rígida (en base a su anamnesis, niveles normales de péptidos natriuréticos y creatinina). La mediana de hs-cTnI fue significativamente mayor en los hombres en comparación con las mujeres y en los ancianos en comparación con los jóvenes, lo que indica la necesidad de reflejar las características relacionadas con la edad en los niveles de hs-cTnI. Este inmunoensayo hipersensible es significativamente superior a otros métodos altamente sensibles existentes [60]. Esta sensibilidad se logró mediante el uso de 4 tipos de anticuerpos: 2 de ellos están dirigidos a epítomos ubicados en el centro

de la troponina y 2 a epítomos ubicados en ambos extremos de la molécula, lo que proporciona una mayor captación de la molécula de troponina I y sus fragmentos en comparación con los sistemas de prueba basados en el uso de 2 o 3 tipos de anticuerpos.

El parámetro importante que determina la precisión del inmuno ensayo, es el % CV. El método se considera altamente preciso y cumple los requisitos de la IFCC, si al determinar en serie el nivel de troponina en la misma muestra, la dispersión media de los resultados obtenidos no supera un 10% (CV≤10%). Sin embargo, debido a la escasa disponibilidad comercial de pruebas de alta precisión, todavía se utilizan ampliamente en muchos laboratorios las pruebas de troponina con 10% ≤ CV ≤ 20%. El uso de estos sistemas de prueba puede dar lugar a resultados falsos positivos y falsos negativos. Las pruebas con CV > 20% son inaceptables para uso clínico y deben excluirse (Tabla 2). Una mejora significativa en los parámetros analíticos de las pruebas altamente sensibles hizo posible introducir una clasificación adicional de métodos denominada "funcional" basada en la relación entre el percentil 99 y el LoD. Cuanto mayor es la correlación percentil 99 / LoD, mayor es la probabilidad de identificar sujetos con valores medibles. En la Tabla 3 se resumen algunos de los sistemas de prueba modernos altamente sensibles disponibles para uso clínico, así como sus parámetros analíticos (según datos de IFCC, 2020) [61].

**Tabla 1.** Características analíticas modernas de la calidad de los métodos de inmunoensayo de troponinas cardíacas.

Parámetro	Descripción, comentario
LoB (límite de espacios en blanco) (falso positivo)	La señal más baja generada en líquido con concentración cero de troponina (en blanco) -cuanto menos, mejor
LoD (límite de detección): límite de detección (concentración mínima detectable)	Valor obtenido en el fluido biológico con la menor concentración de troponina - cuanto menos, mejor
LoQ (límite de cuantificación) - límite de blanco, o cuantificación (sensibilidad funcional)	Concentración mínima que se puede determinar con una incertidumbre de ≤ 10%: cuanto menor, mejor
Total (sin contar con diferencias sexuales) del percentil 99	La concentración de troponina detectada en un 99% de individuos verdaderamente sanos, y solo en un 1% de los investigados verdaderamente sanos se admite resultado falso positivo, la mayoría de las veces por alguna razón desconocida
Valores de género del percentil 99	Concentraciones de troponina detectadas en un 99% de individuos sanos, teniendo en cuenta el sexo. En los hombres, el percentil 99 del límite superior de la norma es aproximadamente 1,5-2 veces más alto que en las mujeres, según el análisis utilizado.
Valor umbral (nivel de corte, o cut-off)	La concentración mínima de troponina para el diagnóstico de IAM. Este indicador se usa solo en sistemas de prueba moderadamente sensibles, mientras que en algoritmos acelerados que usan sistemas de prueba altamente sensibles y ultrasensibles, el nivel del percentil 99 se usa como referencia.
Coefficiente de variación (CV%)	Dispersión aleatoria de medidas en la misma muestra. Cuanto más bajo sea, más preciso será el análisis.
Porcentaje de valores <percentil 99 en individuos sanos	Número de personas sanas (en%), en que el nivel de troponina en la sangre se determina en el rango de LoD al percentil 99.
Relación 99 percentil / LoD	Cuanto es mayor, tanto más alta es la sensibilidad de la prueba.

**Tabla 2.** Exactitud y sensibilidad de los métodos de inmunoensayo de troponina cardíaca

Coeficiente de variación (inexactitud del análisis, %)	
CV≤10 10≤CV≤20 CV≥20	Muy precisa (aceptable para el diagnóstico) De baja precisión, pero clínicamente aceptable Inaceptable para su uso
Porcentaje (%) de valores medibles <percentil 99 en personas sanas	
<50 50-75 75-95 >95 99-100	Moderadamente sensibles - 1er nivel Altamente sensibles de 1ra generación - 2do nivel Altamente sensibles de 2da generación - 3er nivel Altamente sensibles de 3era generación - 4to nivel Altamente sensibles de 4ta generación - 5to nivel
Correlación entre el percentil 99 y LoD	
<1 ≥10 ≥20	Clínicamente aceptable (alta sensibilidad) Extremadamente sensible Ultrasensible

**Tabla 3.** Métodos de alta sensibilidad para la determinación de troponinas cardíacas T e I según los datos del comité para el uso clínico de biomarcadores cardíacos IFCC (de diciembre de 2019, proporcionados por los fabricantes), [50] por medición.

Empresa / plataforma / método	LoB (ng/L)	LoD (ng/L)	CV%	Percentil 99 (general y por género), ng / l	Porcentaje de valores medibles en el rango de LoD al percentil 99 (general y por género, %)	Método estadístico utilizado para calcular el percentil 99
Abbott/Alinity i systems/Alinity i STAT High Sensitive Troponin-I; commercial OUS	1,0	1,6	4,0%	General-26,2 M -15,6 H-34,2	General-85% M-78% H-92%	Estadísticas sólidas
Abbott/ARCHITE CT i systems/ ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I; commercial	0,7-1,3	1,1	4,0%	General -26,2 M -15,6 H -34,2	General -85% M-78% H-92	Estadísticas sólidas
Beckman Coulter/Access 2, DxI/Access hsTnI; commercial - OUS	0,0-1,7	1,0-2,3	3,7	General -17,5 M -11,6 H -19,8	> 50	No paramétrico
Beckman Coulter/Access 2, /Access hs TnI; commercial - U.S.: Serum	0,0-0,8	1,0-2,0	6,0	General -18,2 M -11,8 H -19,7	> 50	No paramétrico
LSI Medience (formerly Mitsubishi) PATHFAST hs-cTnI; commercial	-	1	<6	General -15,48 M -16,91 H -11,46	General -76	No paramétrico

LSI Medience (former Mitsubishi) PATHFAST hs-cTnI /PATHFAST cTnI-II	1,23	2,33	6,1	General -27,9 M -20,3 H -29,7	General -66,3 M-52,8 H-78,8	No paramétrico
Ortho/VITROS/hs Troponin I; commercial	0,14-0,51	0,39-0,86	<10	General -11,0 M -9,0 H -12,0	> 50	No paramétrico
Roche/cobas e801/cTnT-hs 18-min and STAT; commercial	2,5	3	<10	General -14,0 M -9,0 H -16,0	General -57,4	No proporcionado por el fabricante.
Siemens ADVIA Centaur XP/ XPT High Sensitivity TnI (TNIH), US & OUS; commercial	0,50	1,6	<4,9	General -46,5 M -39,6 H -58,0	General -72,0 M-57,0 H-86,0	No paramétrico
Singulex Clarity cTnI; commercial	0,02	0,08	2,39	General -8,67 M -8,76 H -9,23	General -99 M-99 H-100	No paramétrico

## CONCLUSIÓN

Los métodos altamente sensibles para la determinación de troponinas han cambiado significativamente nuestra comprensión de la biología de las troponinas cardíacas y han hecho posible mejorar el diagnóstico de IAM. Sin embargo, en la práctica clínica habitual una serie de problemas asociados con el análisis pueden afectar la eficacia de la determinación de troponinas cardíacas. Para el uso confiable y óptimo de métodos altamente sensibles de la determinación de troponinas en la práctica clínica, es importante tener en cuenta sus principales características analíticas: percentil 99, características de género del percentil 99, límite de detección (concentración mínima detectable), coeficiente de variación, percentil 99/límite de detección, límite de espacios en blanco. Debido al hecho de que en la práctica rutinaria de muchas instituciones de salud se están introduciendo gradualmente métodos modernos (altamente sensibles), existe una urgente necesidad de evaluaciones independientes de las características analíticas y el valor clínico y diagnóstico de estos nuevos inmuno ensayos para estudiar el efecto sobre el resultado del análisis de una serie de factores, como los ritmos circadianos y la edad, así como el esclarecimiento de nuevas posibilidades diagnósticas para el estudio de las troponinas cardíacas en fluidos biológicos obtenidos de forma noinvasiva, en particular en el fluido oral.

### Limitaciones de responsabilidad

La responsabilidad del trabajo es sólo de los autores

### Conflictos de interés

Ninguno

### Fuentes de apoyo

La presente investigación no contó con fuentes de financiación.

### Originalidad del trabajo

Este artículo es original y no ha sido enviado para su publicación a otro medio de difusión científica en forma completa ni parcialmente.

### Cesión de derechos

Los participantes de este trabajo ceden el derecho de autor a la Universidad Nacional de Córdoba para publicar en la Revista de la Facultad de Ciencias Médicas y realizar las traducciones necesarias al idioma inglés.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Chaulin AM, Duplyakov DV. [Biomarkers of acute myocardial infarction: diagnostic and prognostic value. Part 1.] *Journal of Clinical Practice*. 2020;11(3):75-84. doi: 10.17816/clinpract34284 (Russian).
2. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, White HD; Executive Group on behalf of the Joint European Society of Cardiology (ESC)/American College of Cardiology (ACC)/American Heart Association (AHA)/World Heart Federation (WHF) Task Force for the Universal Definition of Myocardial Infarction. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Glob Heart*. 2018 Dec;13(4):305-338. doi: 10.1016/j.ghheart.2018.08.004.
3. Pasquale F, Syrris P, Kaski JP, Mogensen J, McKenna WJ, Elliott P. Long-term outcomes in hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac troponin T gene. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012 Feb 1;5(1):10-7. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.111.959973.
4. Duplyakov DV, Chaulin AM. [Mutations of heart troponines, associated with cardiomyopathies. *Kardiologiya: novosti, mneniya, obuchenie*] [*Cardiology: News, Opinions, Training*]. 2019;7(3):8-17. doi:10.24411/2309-1908-2019-13001. (Russian).
5. Sacks DB. Acute coronary ischemia: troponin I and T. *Vasc Med*. 1999;4(4):253-256. doi: 10.1177/1358836X9900400408.
6. Collinson PO. Troponin T or troponin I or CK-MB (or none?). *Eur Heart J*. 1998 Nov;19 Suppl N:N16-24. PMID: 9857934.
7. Park KC, Gaze DC, Collinson PO, Marber MS. Cardiac troponins: from myocardial infarction to chronic disease. *Cardiovasc Res*. 2017;113(14):1708-1718. doi:10.1093/cvr/cvx183
8. Messner B, Baum H, Fischer P, Quasthoff S, Neumeier D. Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle. *Am J Clin Pathol*. 2000 Oct;114(4):544-9. Erratum in: *Am J Clin Pathol* 2000 Dec;114(6):986.
9. Ricchiuti V, Apple FS. RNA expression of cardiac troponin T isoforms in diseased human skeletal muscle. *Clin Chem*. 1999 Dec;45(12):2129-35. Erratum in: *Clin Chem* 2000 Mar;46(3):437.
10. Wens SC, Schaaf GJ, Michels M, Kruijshaar ME, van Gestel TJ, In 't Groen S, Pijnenburg J, Dekkers DH, Demmers JA, Verdijk LB, Brusse E, van Schaik RH, van der Ploeg AT, van Doorn PA, Pijnappel WW. Elevated Plasma Cardiac Troponin T Levels Caused by Skeletal Muscle Damage in Pompe Disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2016 Feb;9(1):6-13. doi: 10.1161/CIRCGENETICS.115.001322.
11. Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, Stojakovic T, Scharnagl H, Dieplinger B, Asslaber M, Radl R, Beer M, Polacin M, Mair J, Szolar D, Berghold A, Quasthoff S, Binder JS, Rainer PP. Elevated Cardiac Troponin T in Patients With Skeletal Myopathies. *J Am Coll Cardiol*. 2018 Apr 10;71(14):1540-1549. doi:10.1016/j.jacc.2018.01.070.
12. Rusakov DY, Vologdina NN, Tulayeva ON. [The development of striated cardiac muscle tissue in the walls of the caval and pulmonary veins.] *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2015;4(3):105-105. doi:10.18499/2225-7357-2015-4-3-105-105. (Russian).
13. Dhoot GK, Gell PG, Perry SV. The localization of the different forms of troponin I in skeletal and cardiac muscle cells. *Exp Cell Res*. 1978;117(2):357-70. doi:10.1016/0014-4827(78)90149-0.
14. Dhoot GK, Perry SV. Distribution of polymorphic forms of troponin components and tropomyosin in skeletal muscle. *Nature*. 1979 Apr 19;278(5706):714-8. doi:10.1038/278714a0.
15. Chaulin AM, Karslyan LS, Duplyakov DV. [Non-Coronarogenic Causes of Increased Cardiac Troponins in Clinical Practice]. *Journal of Clinical Practice*. 2019;10(4):81-93. doi:10.17816/clinpract16309. (Russian).
16. Chaulin AM, Abashina OE, Duplyakov DV. Pathophysiological mechanisms of cardiotoxicity in chemotherapeutic agents. *Russian Open Medical Journal* 2020; 9: e0305. doi: 10.15275/rusomj.2020.0305

17. Chaulin AM, Duplyakov DV. MicroRNAs in Atrial Fibrillation: Pathophysiological Aspects and Potential Biomarkers. *International Journal of Biomedicine*. 2020;10(3):198-205. doi: 10.211103/Article10(3)\_RA3.
18. Wilhelm J, Hettwer S, Schuermann M, Bagger S, Gerhardt F, Mundt S, Muschik S, Zimmermann J, Amoury M, Ebel H, Werdan K. Elevated troponin in septic patients in the emergency department: frequency, causes, and prognostic implications. *Clin Res Cardiol*. 2014 Jul;103(7):561-7. doi: 10.1007/s00392-014-0684-4.
19. Dubin RF, Li Y, He J, Jaar BG, Kalleem R, Lash JP, Makos G, Rosas SE, Soliman EZ, Townsend RR, Yang W, Go AS, Keane M, Defilippi C, Mishra R, Wolf M, Shlipak MG; CRIC Study Investigators. Predictors of high sensitivity cardiac troponin T in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study in the chronic renal insufficiency cohort (CRIC). *BMC Nephrol*. 2013 Oct 22;14:229. doi: 10.1186/1471-2369-14-229.
20. Zümürtdal A, Bakinen O, Uçan H, Atalay HV, Bodur H. Relationship between uremic myopathy and false-positive cardiac troponin T test. *Nephron*. 2000 Dec;86(4):522-3. doi: 10.1159/000045852.
21. Klinkenberg LJ, Wildt K, van der Linden N, Kouw IW, Niens M, Twerenbold R, Rubini Gimenez M, Puelacher C, Daniel Neuhaus J, Hillinger P, Nestelberger T, Boeddinghaus J, Grimm K, Sabti Z, Bons JA, van Suijlen JD, Tan FE, Ten Kate J, Bekers O, van Loon LJ, van Dieijen-Visser MP, Mueller C, Meex SJ. Diurnal Rhythm of Cardiac Troponin: Consequences for the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Clin Chem*. 2016 Dec;62(12):1602-1611. doi: 10.1373/clinchem.2016.257485.
22. Chaulin AM, Duplyakova PD, Duplyakov DV. Circadian rhythms of cardiac troponins: mechanisms and clinical significance. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25:4061. doi:10.15829/1560-4071-2020-4061.
23. Chaulin AM, Duplyakov DV. [High-sensitivity cardiac troponins: circadian rhythms]. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(1):2639. (Russian). doi:10.15829/1728-8800-2021-2639.
24. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, Mockel M, Ordonez-Llanos J, Lindahl B, Hollander J, Plebani M, Than M, Chan MH; International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem*. 2015 Mar;48(4-5):201-3. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.08.021.
25. Shah AS, Griffiths M, Lee KK, McAllister DA, Hunter AL, Ferry AV, Cruikshank A, Reid A, Stoddart M, Strachan F, Walker S, Collinson PO, Apple FS, Gray AJ, Fox KA, Newby DE, Mills NL. High sensitivity cardiac troponin and the under-diagnosis of myocardial infarction in women: prospective cohort study. *BMJ*. 2015 Jan 21;350:g7873. doi: 10.1136/bmj.g7873. Erratum in: *BMJ*. 2015;350:h626. Erratum in: *BMJ*. 2016 Sep 06;354:i4840.
26. Gore MO, Seliger SL, Defilippi CR, Nambi V, Christenson RH, Hashim IA, Hoogeveen RC, Ayers CR, Sun W, McGuire DK, Ballantyne CM, de Lemos JA. Age- and sex-dependent upper reference limits for the high-sensitivity cardiac troponin T assay. *J Am Coll Cardiol*. 2014 Apr 15;63(14):1441-8. doi: 10.1016/j.jacc.2013.12.032.
27. Trupp RJ, Albert G, Ziegler A. Sex-specific 99th percentiles derived from the AACC Universal Sample Bank for the Roche Gen 5 cTnT assay: Comorbidities and statistical methods influence derivation of reference limits. *Clin Biochem*. 2018 Feb;52:173. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2017.11.003.
28. Aakre KM, Røraas T, Petersen PH, Svarstad E, Sellevoll H, Skadberg Ø, Sæle K, Sandberg S. Weekly and 90-minute biological variations in cardiac troponin T and cardiac troponin I in hemodialysis patients and healthy controls. *Clin Chem*. 2014 Jun;60(6):838-47. doi: 10.1373/clinchem.2013.216978.
29. van der Linden N, Cornelis T, Klinkenberg LJ, Kimenai DM, Hilderink JM, Litjens EJ, Kooman JP, Bekers O, van Dieijen-Visser MP, Meex SJ. Strong diurnal rhythm of troponin T, but not troponin I, in a patient with renal dysfunction. *Int J Cardiol*. 2016 Oct 15;221:287-8. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.268.
30. Zenina OY, Makarova II, Ignatova YP, Aksenova AV. [Chronophysiology and chronopathology of cardiovascular system (Literature Review)]. *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2017;(1):25-33. doi: 10.33396/1728-0869-2017-1-25-33 (Russian).
31. Pervan, P, Svaguša, T, Prkačin, I, Savuk, A, Bakos, M, Perkov, S. Urine high sensitive Troponin I measuring in patients with hypertension. *Signa Vitae - A Journal In Intensive Care And Emergency Medicine*. 2017;13(Suppl3):62-64. doi: 10.22514/SV133.062017.13.
32. Chaulin AM, Karslyan LS, Bazyuk EV, Nurbaltaeva DA, Duplyakov DV. [Clinical and Diagnostic Value of Cardiac Markers in Human Biological Fluids]. *Kardiologija*. 2019 Dec 11;59(11):66-75. Russian. doi: 10.18087/cardio.2019.11.n414.
33. Mirzaei-Dizgah I, Riahi E. Salivary high-sensitivity cardiac troponin T levels in patients with acute myocardial infarction. *Oral Diseases*. 2013;19(2):180-184. doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01968.x.
34. Chaulin A.M., Duplyakova P.D., Bikbaeva G.R., Tukhbatova A.A., Grigorieva E.V., Duplyakov D.V. Concentration of high-sensitivity cardiac troponin I in the oral fluid in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(12):3814. doi:10.15829/1560-4071-2020-3814.
35. Chaulin AM, Duplyakov DV. Increased natriuretic peptides, not associated with heart failure. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(12):4140. doi:10.15829/1560-4071-2020-4140.
36. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1987;113(6):1333-1344. doi:10.1016/0002-8703(87)90645-4.
37. Venge P, Lindahl B. Cardiac troponin assay classification by both clinical and analytical performance characteristics: a study on outcome prediction. *Clin Chem*. 2013;59:976-981. doi: 10.1373/clinchem.2012.194928.
38. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, Remppis A, Scheffold T, Borgya A, Essig U, Geuss U. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem*. 1992 Mar;38(3):386-93.
39. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000 Sep;36(3):959-69. doi: 10.1016/s0735-1097(00)00804-4. Erratum in: *J Am Coll Cardiol* 2001 Mar 1;37(3):973.
40. Hermesen D, Apple F, Garcia-Beltrán L, Jaffe A, Karon B, Lewandrowski E, Mühlbacher A, Müller R, Ordóñez J, Pagani F, Panteghini M, Plecko T, Jarausch J. Results from a multicenter evaluation of the 4th generation Elecsys Troponin T assay. *Clin Lab*. 2007;53(1-2):1-9.
41. Reichlin T, Hochholzer W, Stelzig C, Laule K, Freidank H, Morgenthaler NG, Bergmann A, Potocki M, Noveanu M, Breidhardt T, Christ A, Boldanova T, Merki R, Schaub N, Bingisser R, Christ M, Mueller C. Incremental value of copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2009 Jun 30;54(11):60-8. doi: 10.1016/j.jacc.2009.01.076.
42. Mingels A, Jacobs L, Michlielsen E, Swaanenburg J, Wodzig W, van Dieijen-Visser M. Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays. *Clin Chem*. 2009 Jan;55(1):101-8. doi: 10.1373/clinchem.2008.106427.
43. Keller T, Zeller T, Ojeda F, Tzikas S, Lillpopp L, Sinning C, Wild P, Genth-Zotz S, Wamholtz A, Giannitsis E, Möckel M, Bickel C, Peetz D, Lackner K, Baldus S, Münzel T, Blankenberg S. Serial changes in highly sensitive troponin I assay and early diagnosis of myocardial infarction. *JAMA*. 2011 Dec 28;306(24):2684-93. doi: 10.1001/jama.2011.1896.
44. Adams JE 3rd, Bodor GS, Dávila-Román VG, Delmez JA, Apple FS, Ladenson JH, Jaffe AS. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*. 1993 Jul;88(1):101-6. doi: 10.1161/01.cir.88.1.101.

45. Apple FS. Counterpoint: Standardization of cardiac troponin I assays will not occur in my lifetime. *Clin Chem*. 2012;58(1):169-71. doi:10.1373/clinchem.2011.166165.
46. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, Mockel M, Ordóñez-Llanos J, Lindahl B, Hollander J, Plebani M, Than M, Chan MH; International Federation of Clinical Chemistry (IFCC) Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem*. 2015 Mar;48(4-5):201-3. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2014.08.021.
47. Anand A, Shah ASV, Beshiri A, Jaffe AS, Mills NL. Global Adoption of High-Sensitivity Cardiac Troponins and the Universal Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem*. 2019 Mar;65(3):484-489. doi: 10.1373/clinchem.2018.298059.
48. Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *Clin Biochem Rev*. 2008 Aug;29 Suppl 1(Suppl 1):S49-52.
49. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem*. 2009 Jul;55(7):1303-6. doi: 10.1373/clinchem.2009.128363.
50. Collinson PO, Heung YM, Gaze D, Boa F, Senior R, Christenson R, Apple FS. Influence of population selection on the 99th percentile reference value for cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012 Jan;58(1):219-25. doi: 10.1373/clinchem.2011.171082.
51. Eggers KM, Apple FS, Lind L, Lindahl B. The applied statistical approach highly influences the 99th percentile of cardiac troponin I. *Clin Biochem*. 2016 Oct;49(15):1109-1112. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2016.08.012.
52. Cervellin G, Mattiuzzi C, Bovo C, Lippi G. Diagnostic algorithms for acute coronary syndrome-is one better than another? *Ann Transl Med*. 2016 May;4(10):193. doi: 10.21037/atm.2016.05.16.
53. Sörensen NA, Neumann JT, Ojeda F, Schwemer T, Renné T, Schnabel RB, Zeller T, Karakas M, Blankenberg S, Westermann D. Challenging the 99th percentile: A lower troponin cutoff leads to low mortality of chest pain patients. *Int J Cardiol*. 2017 Apr 1;232:289-293. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.12.167.
54. Lippi G, Bonfanti L, Dipalo M, Aloe R, Cervellin G. Clinical, organizational and economic analysis of high-sensitivity cardiac troponin testing in the emergency department. *Ann Res Hosp* 2017;1:44.
55. Pickering JW, Than MP, Cullen L, Aldous S, Ter Avest E, Body R, Carlton EW, Collinson P, Dupuy AM, Ekelund U, Eggers KM, Florkowski CM, Freund Y, George P, Goodacre S, Greenslade JH, Jaffe AS, Lord SJ, Mokhtari A, Mueller C, Munro A, Mustapha S, Parsonage W, Peacock WF, Pemberton C, Richards AM, Sanchis J, Staub LP, Troughton R, Twerenbold R, Wildi K, Young J. Rapid Rule-out of Acute Myocardial Infarction With a Single High-Sensitivity Cardiac Troponin T Measurement Below the Limit of Detection: A Collaborative Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2017 May 16;166(10):715-724. doi: 10.7326/M16-2562. Epub 2017 Apr 18. Erratum in: *Ann Intern Med*. 2017 Oct 3;167(7):528.
56. Ferencik M, Mayrhofer T, Lu MT, Woodard PK, Truong QA, Peacock WF, Bamberg F, Sun BC, Fleg JL, Nagurney JT, Udelson JE, Koenig W, Januzzi JL, Hoffmann U. High-Sensitivity Cardiac Troponin I as a Gatekeeper for Coronary Computed Tomography Angiography and Stress Testing in Patients with Acute Chest Pain. *Clin Chem*. 2017 Nov;63(11):1724-1733. doi: 10.1373/clinchem.2017.275552.
57. Jaeger C, Wildi K, Twerenbold R, Reichlin T, Rubini Gimenez M, Neuhaus JD, Grimm K, Boeddinghaus J, Hillinger P, Nestelberger T, Singeisen H, Gugala M, Pretre G, Puelacher C, Wagener M, Honegger U, Schumacher C, Moreno Weidmann Z, Kreuzinger P, Krivoshei L, Freese M, Stelzig C, Dietsche S, Ernst S, Rentsch K, Osswald S, Mueller C. One-hour rule-in and rule-out of acute myocardial infarction using high-sensitivity cardiac troponin I. *Am Heart J*. 2016 Jan;171(1):92-102.e1-5. doi: 10.1016/j.ahj.2015.07.022.
58. Nestelberger T, Wildi K, Boeddinghaus J, Twerenbold R, Reichlin T, Giménez MR, Puelacher C, Jaeger C, Grimm K, Sabti Z, Hillinger P, Kozuharov N, du Fay de Lavallaz J, Pinck F, Lopez B, Salgado E, Miró Ò, Bingisser R, Lohrmann J, Osswald S, Mueller C. Characterization of the observe zone of the ESC 2015 high-sensitivity cardiac troponin 0h/1h-algorithm for the early diagnosis of acute myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2016 Mar 15;207:238-45. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.01.112.
59. Greenslade JH, Carlton EW, Van Hise C, Cho E, Hawkins T, Parsonage WA, Tate J, Ungerer J, Cullen L. Diagnostic Accuracy of a New High-Sensitivity Troponin I Assay and Five Accelerated Diagnostic Pathways for Ruling Out Acute Myocardial Infarction and Acute Coronary Syndrome. *Ann Emerg Med*. 2018 Apr;71(4):439-451.e3. doi: 10.1016/j.annemergmed.2017.10.030.
60. Garcia-Osuna A, Gaze D, Grau-Agramunt M, Morris T, Telha C, Bartolome A, Bishop JJ, Monsalve L, Livingston R, Estis J, Nolan N, Sandlund J, Ordóñez-Llanos J. Ultrasensitive quantification of cardiac troponin I by a Single Molecule Counting method: analytical validation and biological features. *Clin Chim Acta*. 2018 Nov;486:224-231. doi: 10.1016/j.cca.2018.08.015.
61. Ifcc.org. 2021. High-Sensitivity\* Cardiac Troponin I and T Assay Analytical Characteristics Designated by Manufacturer IFCC Committee on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers (C-CB) v122019. [online] Disponible en: <https://www.ifcc.org/media/478231/high-sensitivity-cardiac-troponin-i-and-t-assay-analytical-characteristics-designated-by-manufacturer-v122019.pdf> [Accedido el 25 October 2021].