

Publication status: Not informed by the submitting author

CORRELATION OF BLOOD AND SALIVARY TROPONIN IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION: PRELIMINARY STUDY

Flávia Kubrusly Arsego, Luiz Fernando Kubrusly, Douglas Mesadri Gewehr, Rafael Dib Possiedi ,
Paulo Afonso Nunes Nassif , Fernando Issamu Tabushi , Fernando Bermudez Kubrusly , Maria
Luiza Ronkoski , Priscila Panassolo Cioato

<https://doi.org/10.1590/SciELOPreprints.8347>

Submitted on: 2024-03-27

Posted on: 2024-03-27 (version 1)

(YYYY-MM-DD)

The moderation of this preprint received the endorsement of:
Osvaldo Malafaia (ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1829-7071>)

CORRELAÇÃO DA TROPONINA SANGUÍNEA E SALIVAR EM PACIENTES COM INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO: ESTUDO PRELIMINAR

CORRELATION OF BLOOD AND SALIVARY TROPONIN IN PATIENTS WITH ACUTE MYOCARDIAL INFARCTION: PRELIMINARY STUDY

Flávia Kubrusly Arsego¹, Luiz Fernando Kubrusly¹, Douglas Mesadri Gewehr¹,
Rafael Dib Possiedi², Paulo Afonso Nunes Nassif¹, Fernando Issamu Tabushi¹,
Fernando Bermudez Kubrusly¹, Maria Luiza Ronkoski¹, Priscila Panassolo Cioato¹

Afiliação dos autores: ¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;
²Ross Tilley Burn Centre, Sunnybrook Hospital, University of Toronto, Ontario, Canada;

ORCID

Flávia Kubrusly Arsego - <https://orcid.org/0000-0001-6889-1725>
Luiz Fernando Kubrusly - <https://orcid.org/0000-0002-6546-9841>
Douglas Mesadri Gewehr - <https://orcid.org/0000-0001-9393-2445>
Rafael Dib Possiedi - <https://orcid.org/0000-0002-3678-7920>
Paulo Afonso Nunes Nassif - <https://orcid.org/0000-0002-1752-5837>
Fernando Issamu Tabushi - <https://orcid.org/0000-0002-3150-2164>
Fernando Bermudez Kubrusly - <https://orcid.org/0000-0002-5045-9237>
Maria Luiza Ronkoski - <https://orcid.org/0000-0002-8156-1584>
Priscila Panassolo Cioato – <https://orcid.org/0009-0006-9978-1776>

Correspondência:

Flávia Kubrusly Arsego
Email: flaviabkubrusly@gmail.com

Conflito de interesse: Nenhum

Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

Mensagem Central

Biomarcadores podem sinalizar lesão miocárdica, em especial as troponinas, através de amostras de sangue e saliva. A preferência pela utilização da saliva como fluido diagnóstico é sustentada pela facilidade de obtenção a partir de método não invasivo e potencialmente pré-hospitalar; mas, não há ainda comprovação de sua efetividade como biomarcador precoce. Assim, sua aplicação com esta finalidade necessita ser melhor estudada, e é o que este estudo procurar oferecer.

Perspectiva

Pacientes com quadro clínico de IAM deste estudo foram retirados de unidade de emergência no início do evento cardíaco e, portanto, com curvas de troponina I apenas inicial. Ele sinalizou possibilidade de ser feito diagnóstico precoce, mas com altos graus de falsos positivos e negativos. Futura pesquisa com amostra retirada da saliva e sangue

já pelas unidades coronarianas, 24 h após o diagnóstico do IAM e, portanto, com níveis de troponina I mais elevados, no sangue e na saliva, pode ou não validar este biomarcador salivar que é fácil e rápido de ser colhido, realizando diagnóstico o mais precocemente possível.

Contribuição dos autores

Conceituação: Luiz Fernando Kubrusly

Análise formal: Fernando Issamu Tabushi

Investigação: Flavia Kubrusly Arsego, Maria Luiza Ronkoski, Priscila Panassolo Cioato

Metodologia: Flavia Kubrusly Arsego

Administração do projeto: Douglas Mesadri Gewehr

Supervisão: Flavia Kubrusly Arsego, Paulo Afonso Nunes Nassif

Redação (esboço original): Paulo Afonso Nunes Nassif, Luiz Fernando Kubrusly

Redação (revisão e edição): Paulo Afonso Nunes Nassif, Luiz Fernando Kubrusly

RESUMO - Introdução: Na ocorrência da lesão miocárdica, a identificação de biomarcadores constituintes da célula muscular cardíaca, em especial as troponinas, pode ser observada a partir de amostras de sangue e saliva. A preferência pela utilização da saliva como fluido diagnóstico é sustentada pela facilidade de obtenção a partir de método não invasivo e potencialmente pré-hospitalar. **Objetivo:** Verificar a expressão de troponina I do fluido salivar no infarto agudo do miocárdio em triagens de emergências e pré-hospitalares e correlacioná-la com os níveis plasmáticos da troponina I. **Método:** Estudo analítico transversal de teste diagnóstico em 27 pacientes, 9 mulheres e 18 homens, com confirmação diagnóstica de infarto agudo do miocárdio. Foram coletadas amostras de sangue e saliva armazenadas e transportadas em período de até 24 h para quantificação da troponina I. **Resultados:** O estudo demonstrou que 44,4% dos pacientes apresentaram positividade de troponina I em ambas as análises, com igualdade de resultados dicotômicos em 48,1% dos casos. Assim, o teste de troponina salivar obteve 48% de sensibilidade e 50% de especificidade. **Conclusão:** Foi possível identificar troponina I no fluido da saliva de pacientes em vigência de infarto agudo do miocárdio, mas a probabilidade de ela ter resultado falso positivo foi de 50% e de falso negativo de 52%.

PALAVRAS-CHAVE: Troponina I. Troponina T. Infarto agudo do miocárdio.

ABSTRACT - Introduction: In the event of myocardial injury, the identification of biomarkers that constitute the cardiac muscle cell, especially troponins, can be observed from blood and saliva samples. The preference for using saliva as a diagnostic fluid is supported by the ease of obtaining it using a non-invasive and potentially pre-hospital method. **Objective:** To verify the expression of troponin I in salivary fluid in acute myocardial infarction in emergency and pre-hospital screenings and correlate it with plasma troponin I levels. **Method:** Cross-sectional analytical study of diagnostic testing in 27 patients, 9 women and 18 men, with diagnostic confirmation of acute myocardial infarction. Blood and saliva samples were collected and stored and transported over a period of up to 24 hours for troponin I quantification. **Results:** The study demonstrated that 44.4% of patients were positive for troponin I in both analyses, with equal dichotomous results in 48.1% of cases. Thus, the salivary troponin test achieved 48% sensitivity and 50% specificity. **Conclusion:** It was possible to identify troponin in the

saliva fluid of patients suffering from acute myocardial infarction, but the probability of a false positive result was 50% and a false negative result was 52%.

KEYWORDS: Troponin I. Troponin T. Acute myocardial infarction.

INTRODUÇÃO

O conjunto das doenças cardiovasculares é a causa mais comum de mortalidade no mundo e no Brasil com mortalidade independente de fatores econômicos e sociais. Em dados recentes, a Organização Mundial da Saúde¹ estima que 17,9 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares apenas em 2019 (32% da mortalidade do mundo), ou seja, toda a mortalidade do COVID em dois anos de pandemia foi metade da mortalidade de apenas um ano das doenças cardiovasculares e destas, 85% foram por infarte agudo do miocárdio (IAM).² Dentre elas, a mais frequente é a doença isquêmica coronariana.³ Nos EUA estima-se 2.300 mortes diárias devido a doença cardiovascular e na Europa, mais 4 milhões em 2017.⁴ Seu custeio vem subindo globalmente de forma exponencial, independentemente do nível socioeconômico do país, e estima-se que até 2030 ultrapassará US\$800 bilhões, em comparação a US\$273 bilhões em 2010.⁵

Os objetivos desta pesquisa foram identificar e avaliar quantitativamente a presença de troponina cardíaca na saliva de pacientes com diagnóstico prévio de IAM em pronto socorro e verificar a correlação de seus valores no sangue e saliva.

MÉTODO

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná (CAAE 89712418.0.0000.0103 – Parecer 2.692.950), tendo sido respeitadas as normas e diretrizes da resolução CNS 466/12, II.15.116 e com assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de todos os incluídos. Trata-se de estudo analítico transversal de teste diagnóstico.

Amostragem

A casuística foi constituída por pacientes que buscaram atendimento em serviço de emergência em 2 hospitais filantrópicos em Curitiba, PR, Brasil, com sintomas de síndrome coronariana aguda, entre 2019 e 2020.

Foram considerados elegíveis à inclusão os que tinham idade ≥ 18 anos; dor torácica e/ou equivalentes anginosos; dados eletrocardiográficos com supra- ou infradesnivelamento do segmento ST; alteração dinâmica do segmento ST; alterações laboratoriais (troponina I) para diagnóstico de IAM⁶; e consentissem assinar o TCLE. Os critérios de exclusão foram possuírem trauma; insuficiência cardíaca congestiva; insuficiência renal; hipotireoidismo; tromboembolismo pulmonar; asma grave; sepse; queimaduras; sangramento oral ativo; quimioterapia; e entubação traqueobrônquica.

Coleta de dados

Entrevistadores treinados coletaram, através de formulário de coleta de dados padronizado, os seguintes dados na admissão hospitalar: 1) dados sociodemográficos; 2) história mórbida pregressa e fatores de risco; 3) medicações de uso contínuo; 4) sinais e sintomas apresentados na admissão hospitalar; 5) tempo entre o início da dor e a coleta

da troponina; e 6) amostras de sangue e saliva para posterior avaliação de troponina I cardíaca (troponina I).

Coleta das amostras de sangue e saliva

Todos os participantes tiveram amostras de sangue e saliva coletadas após o evento-índice. As coletas foram realizadas de acordo com aviso pelos médicos plantonistas nos serviços de UTI e pronto-atendimento aos pesquisadores responsáveis.

Durante a coleta, os participantes foram instruídos a expectorar a saliva acumulada no assoalho da cavidade bucal em recipiente plástico fornecido. O procedimento foi conduzido pelo próprio paciente, sem intervenção de terceiros, garantindo a exclusividade do manuseio. Foi coletado 1 ml de saliva em repouso. Em seguida, procedeu-se a coleta de 3 ml de sangue venoso por punção venosa periférica, utilizando tubo de coleta contendo heparina sódica.

Todas as amostras foram armazenadas em recipientes apropriados dentro de caixa de isopor, com temperatura controlada por termômetro digital (Figura 1A) e refrigeração adicional através de bolsa térmica de gel congelada reutilizável (Figura 1B). Posteriormente, foram encaminhadas ao laboratório para análise em até 24 h da coleta com o objetivo de dosar as concentrações de troponina I na saliva e no soro de cada paciente.



FIGURA 1 – A) Caixa de isopor para armazenamento e transporte das amostras; B) interior da caixa com bolsa em gel congelado, suporte para tubos de ensaio e sensor interno do termômetro

Mensuração da troponina sérica e salivar

Tn-I cardíaca foi mensurada em todas as amostras. O ensaio utilizado para esta mensuração foi imunoenensaio fluorescente *ichroma* Tn-I (*Boditech Med Incorporated, Chuncheon-si, Gang-won-do, Republic of Korea*), com faixa de medição de 0,10/0,50 ng/ml e limite de referência superior (percentil 99) para a Tn-I de 0,11 ng/ml. A concentração mais baixa com coeficiente de variação igual ou inferior a 10% foi de 0,50 ng/ml. O *cut-off* de 0,3 ng/ml foi indicação de bula do teste *ichroma* Tn-I para diagnóstico de IAM, por propiciar bom desempenho (91% de sensibilidade e 92,1% de especificidade) em amostras sanguíneas.

As duas amostras (sanguínea e salivar) de cada paciente foram submetidas ao mesmo procedimento de análise com o mesmo teste de imunoenensaio fluorescente. Os custos para as 2 técnicas foram equivalentes. Os resultados dos exames foram fornecidos pelo laboratório em período de 48 h após a entrega das amostras.

Análise estatística

Os resultados das variáveis categóricas foram descritos por frequência absoluta e percentual. Para as variáveis quantitativas com distribuição normal (confirmada pelo teste de Shapiro-Wilk), foram apresentadas média \pm desvio-padrão e para aquelas com distribuição não normal, expressas por mediana (intervalo interquartilico), valor mínimo e máximo. A correlação entre os níveis quantitativos de troponina I sérica e salivar foi avaliada através do teste de correlação de Spearman, devido à ausência de distribuição normal em ambas as variáveis. Os resultados quantitativos foram dicotomizados em $\geq 0,3$ (positivo para isquemia miocárdica) e $< 0,3$ (negativo para isquemia miocárdica). A associação entre essas variáveis dicotômicas foi analisada pelo teste exato de Fischer. A sensibilidade e especificidade do teste diagnóstico da troponina salivar em relação à troponina sérica I e T - considerada como padrão-ouro - foram calculadas utilizando os resultados dicotomizados dos níveis quantitativos de troponina I, onde valores iguais ou superiores a 0,3 ng/ml foram classificados como positivos para isquemia miocárdica, enquanto os inferiores a 0,3 ng/ml como negativos. A sensibilidade (equação 1) foi determinada como a proporção de verdadeiros positivos (VP) em relação ao total de casos com troponina sérica $\geq 0,3$ ng/ml (VP + falso negativos [FN]). Já a especificidade (equação 2) foi calculada como a proporção de verdadeiros negativos (VN) em relação ao total de casos com troponina sérica $< 0,3$ ng/ml (VN + falso positivos [FP]). O valor preditivo positivo (VPP, equação 3) foi determinado como a proporção de casos VP em relação ao total de casos com teste positivo (VP + FP), refletindo a probabilidade de resultado positivo ser corretamente identificado. O valor preditivo negativo (VPN, equação 4) foi calculado como a proporção de casos VN em relação ao total de casos com teste negativo (VN + FN). Os dados foram analisados utilizando o software Stata versão 15⁷ com nível de significância estipulado em 5%.

RESULTADOS

Características clínicas e demográficas

O presente estudo incluiu total de 27 participantes.

A idade média foi de 60,6 anos e 66,6% eram homens. O diagnóstico inicial de IAM com supradesnívelamento do segmento ST ocorreu em 63%. Os fatores de risco mais frequentes foram hipertensão arterial sistêmica (66,6%), tabagismo (55,6%) e história familiar positiva para doença arterial coronariana (48,1%). Os sintomas mais frequentes foram dor no peito (92,6%), náusea (44,4%), e suor frio (40,7%). Aproximadamente 25% tinham diagnóstico prévio de IAM (Tabela 1).

O intervalo entre a admissão e a coleta de amostras apresentou variações devido às diferentes estratégias adotadas pelo hospital para cada paciente, além das discrepâncias nos horários de alimentação e no tempo decorrido entre a admissão do paciente e a notificação pelo médico responsável. Essa variação resultou em um tempo mínimo de 2,8 horas, máximo de 72,6 horas, e uma média de 26 horas ($\pm 19,0$).

TABELA 1 - Características clínicas e demográficas dos participantes (n = 27)

Variáveis	Resultados - n (%)
Idade, média \pm DP	60,6 \pm 13,0
Gênero	
Masculino	18 (66,6)

Feminino	9 (33,3)
Cor	
Branco	23 (85,2)
Pardo	4 (14,8)
Fatores de risco	
Quantidade de fatores de risco - IIQ; min-max	2(1); 0-5
Hipertensão	18 (66,6)
Tabagismo	15 (55,6)
História familiar positiva doença arterial coronariana	13 (48,1)
Diabete melito	8 (29,6)
Dislipidemia	6 (22,2)
Obesidade	4 (14,8)
Hipotireoidismo	1 (3,7)
Depressão	1 (3,7)
Nenhum	2 (7,4)
Sinais e sintomas na admissão hospitalar	
Quantidade sinais e sintomas - IIQ; min-max	2(2); 1-6
Dor no peito	25 (92,6)
Náusea	12 (44,4)
Suor frio	11 (40,7)
Dor no braço esquerdo	9 (33,3)
Falta de ar	7 (25,9)
Dor maxilar	6 (22,2)
Dor epigástrica	1 (3,7)
Palpitações	1 (3,7)
Vômito	4 (14,8)
ECG com supradesnivelamento da onda ST	17 (63)
Medicamentos utilizados previamente ao IAM	
Quantidade medicamentos utilizados	1(2); 0-4
Antes do IAM; mediana - IIQ; min-max	
IECA/BRA	19 (70,4)
Estatinas	9 (33,3)
Betabloqueador	7 (25,9)
AAS	4 (14,8)
Clopidogrel/Ticagrelor/Prasugrel	3 (11,1)
Antidiabéticos orais	3 (11,1)
Sem medicamento	7 (25,9)
Já tiveram IAM anteriormente	7 (25,9)
Submetidos a procedimentos cardiológicos em internamentos anteriores	4 (14,8)
Procedimentos cardiológicos	
Cateterismo	10 (37)
Angioplastia	7 (25,9)
Angioplastia com balão intra-aórtico	1 (3,7)
Nenhum procedimento	9 (33,3)
Tempo entre o início da dor e a coleta da pesquisa (horas, média ± DP)	51,4 ± 38,2 42,7(32), 10,2-168,1
Tempo entre o internamento hospitalar e a coleta da pesquisa (horas, média ± DP)	26 ± 19,0 23,3(25,5), 2,8-72,6
Troponina sérica na coleta (ng/ml), mediana (IIQ); min-max	11,3 ± 13,3 5,1(16,14); 0,07-47,4
Troponina salivar na coleta (ng/ml), mediana (IIQ), min-max	1,94 ± 5,1 0,2 (1,08); 0,07-26,1
Variação percentual da troponina salivar em relação à sérica (%; mediana IIQ; min-max)	-33,6% ± 154,2% -96,8 (40,4); -99,8 a 568,8

DP=desvio-padrão; IIQ=intervalo interquartil; min=valor mínimo; max=valor máximo; n=número de casos; %=percentual de casos pelo total. Dados quantitativos com distribuição normal estão expressos por média ± DP e sem distribuição normal por mediana IIQ; min-max.

Correlação entre a troponina sérica e salivar

A média da troponina I sérica coletada foi de 11,3 (±13,3) ng/ml, mediana de 5,1 ng/ml com o valor mínimo de 0,07ng/ml, e máximo de 47,4ng/ml; a salivar teve como média o equivalente a 1,94 (±5,1) ng/ml, sendo a mediana 0,2ng/ml seu valor mínimo 0,07ng/ml e máximo 26,1ng/ml. Como variação do percentual da troponina salivar em

relação à sérica obteve-se a média de -33,6% ($\pm 154,2\%$), com variação percentual mínima de -99,8% e máxima de 568,8%.

Foi testada a correlação entre os níveis quantitativos absolutos de troponina I sérica e salivar coletados no mesmo momento temporal (Figura 2), na qual observa-se que não houve correlação significativa entre as variáveis ($r=0,156$; $p=0,436$), não sendo possível estabelecer relação proporcional entre as concentrações sérica e salivar.

Testou-se ainda a associação entre a positividade ou não da troponina na análise sérica e salivar com base nos dados descritivos da Figura 2. O ponto de corte para a positividade, ou seja, presença de isquemia miocárdica, foi $\geq 0,3$ ng/ml tanto para níveis séricos quanto salivares.

Dos 27 pacientes analisados, 12 (44,4%) apresentaram valor de troponina I $\geq 0,3$ ng/ml em análises séricas e salivares, enquanto 1 (3,7%) teve valor $< 0,3$ ng/ml em ambas as análises. Assim, observa-se igualdade de resultados dicotômicos em 48,1% dos casos, sem associação significativa ($p=1,0$).

Considerando valores da Tabela 2 e a troponina sérica como sendo padrão-ouro, constata-se que o teste salivar tem 48% de sensibilidade e 50% de especificidade. Neste estudo, a probabilidade do teste de troponina salivar ter resultado falso positivo é de 50%, e a de falso negativo de 52%.

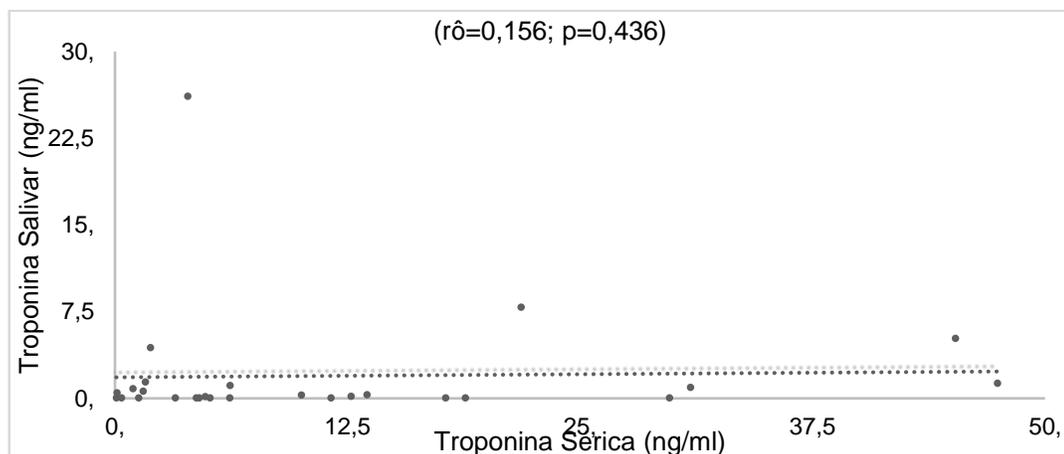


FIGURA 2 - Correlação entre valores de troponina sérica e salivar

TABELA 2 - Descritivo de associação de troponina sérica e salivar (n=13)

		Troponina sérica (ng/ml)		Total
		$\geq 0,3$	$< 0,3$	
Troponina salivar (ng/ml)	$\geq 0,3$	12	1	13
	$< 0,3$	13	1	14
Total		25	2	27

DISCUSSÃO

A doença arterial coronariana é responsável entre 1/2 a 1/3 do total de casos de doença cardiovascular.³ O risco dela foi reportado no *Framingham Heart Study* que contou com 7.733 participantes com idades entre 40-94 anos, os quais eram, inicialmente, livres de doença coronariana. O risco para indivíduos com 40 anos foi de 49% nos homens e 32% nas mulheres. Mesmo aqueles que estavam livres de doença coronariana aos 70 anos tinham risco de vida de desenvolver doença coronária (35% e 24% em homens e mulheres, respectivamente).⁸

A doença arterial coronariana, está presente quando o paciente tem 1 ou mais sintomas e sinais de oferta insuficiente de sangue ao miocárdio, que ocorre mais comumente devido à obstrução das artérias coronárias, na maioria por aterosclerose.

No Brasil, segundo dados do Sistema Único de Saúde (DATASUS)⁹ e Sociedade Brasileira de Cardiologia¹⁰, estima-se que em 2023 foram 395.700 mortes por causa cardiovascular (www.cardiometro.com.br).¹⁰

Essa morbidade e mortalidade em todo mundo independe da condição socioeconômica do país. Países prósperos com sistemas de atendimento da saúde bem desenvolvidos apresentam morbimortalidade cardiovascular semelhantes aos países menos desenvolvidos.

Após 10-15 min do início do processo de isquemia miocárdica, quando as primeiras alterações estruturais são observadas, também o glicogênio celular estará diminuído, miofibrilas relaxadas e poderá já haver ruptura de sarcômeros.^{5,11} Anormalidades mitocondriais são geralmente observadas 10 min após a oclusão coronariana e ocorrem de maneira progressiva, podendo ser observadas na microscopia eletrônica. Em até 4 h ocorre o estabelecimento da necrose miocárdica.

Baseada em estudos experimentais, a necrose progride do subendocárdio para o subepicárdio ao longo de algumas horas. Esse tempo pode ser aumentado pela presença de fluxo colateral já existente, redução do consumo de oxigênio pelo miocárdio e a presença de alternância entre oclusão e reperfusão.¹¹

A implementação rápida de terapias de reperfusão é capaz de reduzir a extensão da lesão isquêmica no miocárdio. Parte destas terapias incluem a utilização de antiadesivos plaquetários que podem reduzir substancialmente o dano miocárdico ao agir no trombo plaquetário antes mesmo da formação do coágulo. Existe comprovação na literatura que quanto mais precoce o tratamento com os antiadesivos plaquetários menor será a mortalidade.¹²

Portanto, o tempo entre início dos sintomas e atuação médica pode ser determinante não apenas na mortalidade como também na sequela de insuficiência cardíaca nos que sobreviveram ao infarte. Sabe-se que quando o tempo de isquemia miocárdica ultrapassa 4 h, o grau de destruição estrutural do miocárdio provavelmente impedirá o retorno à função cardíaca normal sobrevivendo insuficiência cardíaca incompatível com padrão de vida normal, ou seja, sobreviventes desta “*demora*” na desobstrução da coronária envolvida, padecerão com falência cardíaca isquêmica irreversível e perda significativa da qualidade de vida.

Portanto, o jargão cardiológico mundial “*Time Is Muscle*” (tempo é músculo) traz grande verdade anatomopatológica. A partir de 4 h de isquemia a necrose trará fibrose miocárdica e conseqüente insuficiência cardíaca com baixa fração de ejeção.

A base clinicolaboratorial para a identificação do IAM baseia-se no tripé: 1) sintomas; 2) eletrocardiografia; 3) biomarcadores cardíacos de necrose clássicos

(troponina I , creatina quinase sérica, fração miocárdica - CK-MB, concentrações séricas de CK total e mioglobina).¹³

A dosagem de tais marcadores está disponível em praticamente a totalidade das salas de emergência de hospitais.

Frequentes relatos na literatura,^{5,14-22} mostraram que os biomarcadores têm sido considerados fundamentais para diagnóstico e previsão de eventos agudos em pessoas assintomáticas. Podem adicionar informações de prognóstico, além do risco cardiovascular. Eles funcionam como complemento obrigatório no diagnóstico de lesões isquêmicas do coração.^{14,16}

Os biomarcadores cardíacos devem obedecer aos seguintes critérios: 1) disponibilidade em toda sala de emergência; 2) precisão diagnóstica confirmando presença ou não de IAM; 3) rapidamente mensurável; 4) custo aceitável; e 5) capacidade de avaliação prognóstica.^{14,16,23}

Portanto, no que diz respeito ao manejo dos pacientes, os biomarcadores ajudam a identificar outras possíveis causas eventualmente reversíveis de IAM confirmando a presença ou ausência e estimando a gravidade do quadro. Os biomarcadores cardíacos constituem a ferramenta mais importante no diagnóstico, tratamento e evolução do IAM.^{23,24}

Os primeiros biomarcadores estudados no diagnóstico da doença arterial coronariana foram aspartato aminotransferase^{25,26}, lactato desidrogenase^{25,27,28}, isoenzimas lactato desidrogenase^{25,29,30}, e creatina quinase.^{14,23,25,27,29} No entanto, mais recentemente surgiram outros, como peptídeos natriuréticos em particular peptídeo natriurético tipo B (BNP) e N-terminal-proBNP³¹⁻³⁵, ST2 solúvel,³⁶⁻³⁹ citocinas inflamatórias^{40,41} fator GDF 15⁴²⁻⁴⁴ galectina-3⁴⁵⁻⁴⁸ e as troponinas sensíveis.^{23,25,30,49}

Entre estes, as troponinas cardíacas são as mais específicas e, hoje, mais utilizadas na cardiologia. São marcadores de lesão miocárdica e estão como padrão-ouro para o diagnóstico de IAM devido à sua alta sensibilidade e especificidade.^{5,16,50}

Conforme relatado por autores^{5,51}, a troponina I e troponina T têm especificidade praticamente absoluta para dano miocárdico e, também, para a evolução clínica tornando-se fundamentais para detecção precoce de lesão miocárdica. Permitem diagnóstico mais precoce e preciso do IAM, principalmente quando o eletrocardiograma não está alterado, acelerando o tratamento e, assim, ajudando a diminuir a lesão miocárdica definitiva.⁵

Testes diagnósticos através de biomarcadores na saliva podem ser potencialmente usados dentro de ampla gama de aplicações clínicas, desde diagnóstico, prognóstico, diagnóstico na fase pré-hospitalar através de sistema domiciliar de diagnóstico antecipando em muito o tratamento, além da determinação do risco e estratificação nos programas de triagem hospitalar.

Estudos, e estes resultados, questionam se a troponina I salivar pode ser indicador de lesão miocárdica intra e pré-hospitalar, e se a concentração salivar dela é correlacionada à concentração sanguínea.

Poucos estudos relatam com sucesso a quantificação de troponinas na saliva, especialmente saliva crua. Independentemente da concentração extremamente baixa de biomarcadores em saliva, alguns biossensores relatados na literatura para quantificação de troponinas no soro e sangue, atingiram LOD (*limit of detection*) na faixa pg/mL aumentando a possibilidade de detecção na saliva.

As amostras de saliva crua ainda são desafio para a determinação de troponinas devido à alta viscosidade das amostras e à interferência dos componentes da saliva crua. Microfluidos^{52,53} para pré-processamento e filtração passiva^{54,55} podem reduzir a viscosidade da saliva crua tornando-a fluido apropriado para diagnóstico.

Como outros exemplos, a saliva tem sido amplamente aceita para detecção e quantificação desde cortisol até glicose^{56,57} incluindo até diagnóstico de alguns tipos de tumores malignos.^{58,59} Ela, pela sua rápida coleta não invasiva e por seus constituintes serem derivados do sangue capilar local, tem o potencial de tornar-se fonte para diagnóstico de IAM nas emergências cardiológicas.⁶⁰

Atualmente, não está claro se a saliva é substrato bom e adequado para permitir melhorias diagnósticas. No entanto, sua acessibilidade não invasiva e o fato de poder ser coletada diretamente por pacientes em fase pré-hospitalar dos eventos cardiológicos isquêmicos agudos⁶¹ tornam o método atraente no arsenal diagnóstico das equipes médicas, e do próprio paciente em fase domiciliar. Assim como dosagem de glicemia pode ser realizada por paciente em seu domicílio frente aos sintomas suspeitos, também dosagem de troponina I salivar poderia acelerar as tomadas de decisão do paciente e da equipe emergencista.

Portanto, o diagnóstico baseado na saliva oferece muitas opções, com todas as variantes de exames médicos profissionais⁶² podendo vir a ser opção muito interessante para aplicação na exclusão de infarto do miocárdio para o clínico geral, lares de idosos^{11,63} e serviços de transporte em ambulância. Quando um primeiro resultado diagnóstico é confirmado, a determinação de alterações enzimáticas pode acelerar o tratamento de pacientes graves com IAM.

Neste estudo todos os participantes incluídos no trabalho tiveram amostras de sangue e saliva coletadas após o evento-índice. Elas foram realizadas de acordo com o aviso pelos médicos plantonistas nos serviços de UTI e pronto-atendimento aos pesquisadores responsáveis. Foi testada a correlação entre os níveis quantitativos absolutos de troponina I sérica e de troponina I salivar coletados no mesmo momento temporal, no qual observou-se que não houve correlação significativa entre as variáveis ($r=0,156$; $p=0,436$), e assim, não sendo possível estabelecer relação proporcional entre as concentrações de troponina sérica e salivar.

Testou-se ainda a associação entre a positividade ou não da troponina I na análise sérica e salivar com base nos dados da Tabela 2. O ponto de corte para a positividade, ou seja, presença de isquemia miocárdica, foi $\geq 0,3$ ng/ml tanto para níveis séricos quanto salivares. Dos 27 pacientes analisados, 12 (44,4%) apresentaram valor de 0,3 ng/ml em análises séricas e salivares, enquanto 1 (3,7%) de $<0,3$ ng/ml em ambas as análises. Assim, observou-se igualdade de resultados dicotômicos em 48,1% dos casos, sem associação significativa ($p=1,0$).

Os resultados aqui apresentados poderiam, em primeira análise, desestimular o método; no entanto, alguns aspectos deverão ser analisados. Eletrocardiograma - de grande simplicidade, baixo custo e alta disponibilidade em todo o mundo - apresentam também sensibilidade e especificidade em torno de 60%. Contudo quando normais, apesar de não permitirem afastar ou excluir o diagnóstico de IAM e quando realizados de forma sequencial, podem ser de grande utilidade. Quando as alterações do segmento ST positivam em segundo ou terceiro exame passam a nortear o tratamento do IAM.

Outro dado de importância é que alguns autores constataram que a dosagem da troponina I salivar pode e deve ser diferente da sanguínea, incluindo o equipamento e

método a ser utilizado. Apenas 3 biossensores foram relatados na literatura para detecção e quantificação específicas de troponinas na saliva. Park et al⁶⁴⁻⁶⁶ propuseram por detecção ótica e centrífuga a determinação da troponina salivar e sanguínea alcançando LOD de cTnl de 0,51 ng/ml na saliva e de 0,27 ng/ml no sangue. Chekin et al⁹¹ demonstraram a detecção em eletrodos revestidos de óxido de grafeno reduzido, valores em IAM de 0,675 ng/ml, para saliva. Rezael et al⁶⁷ também atingiram LOD necessários para detecção na saliva.

A limitação deste estudo foi não ter atingido significância estatística, mas foi capaz de demonstrar que a saliva pode ser meio de determinação da troponina em eventos isquêmicos do coração. Os biomarcadores cardíacos têm desempenhado papel cada vez mais importante no diagnóstico de IAM e síndromes coronarianas agudas. O teste de troponina I na saliva pode ser potencialmente usado dentro de ampla gama de aplicações clínicas, desde diagnóstico, prognóstico e estratificação de risco e monitoramento da resposta terapêutica.

Os métodos (biossensores) utilizados para a mensuração da troponina sanguínea não deverão ser os mesmos daqueles utilizados para determinação da salivar. A concentração da troponina I na saliva é significativamente menor do que aquela encontrada no sangue e, portanto, LOD necessariamente mais baixo. A tecnologia de sensores de grafeno (Chekin et al.⁶⁸) poderá ajudar desenvolvê-la.

Perspectivas futuras

Pacientes com quadro clínico de IAM selecionados para este estudo foram retirados de unidade de emergência (pronto-socorro) onde eles estavam em seu início do evento cardíaco e, portanto, com curvas de troponina apenas inicial. Futura amostra, pode ser baseada na retirada da saliva e sangue já pelas unidades coronarianas, 24 h após o diagnóstico do IAM e, portanto, com níveis de troponinas mais elevados, no sangue e na saliva. Pretende-se com isto futuro oferecer biomarcador fácil e rápido de ser colhido para diagnóstico mais precoce possível, e assim outros estudos com este escopo devem ser executados.

CONCLUSÃO

Foi possível identificar a troponina no fluido da saliva de pacientes em vigência de IAM. Contudo, a probabilidade do teste de troponina salivar ter resultado falso positivo foi de 50% e falso negativo de 52%.

REFERÊNCIAS

1. Genebra: OMS; 2021
2. Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organization. Updated June 11, 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
3. Bansilal S, Castellano JM, Fuster V. Global burden of CVD: focus on secondary prevention of cardiovascular disease. *Int J Cardiol.* 2015;201(Suppl 1):S1-7. Doi: 10.1016/S0167-5273(15)31026-3
4. Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med.* 2016;4(13):256. Doi: 10.21037/atm.2016.06.33
5. Abdolrahim M, Rabiee M, Alhosseini SN, Tahriri M, Yazdanpanah S, Tayebi L. Development of optical biosensor technologies for cardiac troponin recognition. *Anal Biochem.* 2015;485:1-10. Doi: 10.1016/j.ab.2015.06.003
6. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation.* 2018;138(20):e618-e651. Doi: 10.1161/CIR.0000000000000617

7. StataCorp. Stata Statistical Software: Release 15. College Station, TX: StataCorp LLC; 2017. Available in: <https://www.stata.com>
8. Lloyd-Jones DM, Larson MG, Beiser A, Levy D. Lifetime risk of developing coronary heart disease. *The Lancet*. 1999;353(9):89-92. Doi: 10.1016/S0140-6736(98)10279-9
9. Sistema Único de Saúde (DATASUS). Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/>
10. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Disponível em: www.cardiometro.com.br
11. Zhang J, Kruss S, Hilmer AJ, Shimizu S, Schmois Z, Cruz FDL, et al. A rapid, direct, quantitative, and label-free detector of cardiac biomarker troponin T using near-infrared fluorescent single-walled carbon nanotube sensors. *Adv Healthc Mater*. 2014;3(3):412-23. Doi: 10.1002/adhm.201300033
12. Gewehr DM, Carvalho PE de P, Dagostin CS, Cardoso R, Kubrusly TBL, Kubrusly FB, et al. Pretreatment with P2Y12 inhibitors in ST-elevation myocardial infarction: A systematic review and meta-analysis. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2023;1–12. Doi: 10.1002/ccd.30750
13. Turk-Adawi K, Saffafzadegan N, Fadhil I, Taubert K, Sadeghi M, Wenger NK, et al. Cardiovascular disease in the Eastern Mediterranean region: epidemiology and risk factor burden. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(2):106-19. Doi: 10.1038/nrcardio.2017.138
14. Kimmenade RRJV, Januzzi-Jr JL. Emerging biomarkers in heart failure. *Clin Chem*. 2012;58(1):127-38. Doi: 10.1373/clinchem.2011.165720
15. Clemens RK, Annema W, Baumann F, Roth-Zetzsche S, Seifert B, Eckardstein AV, et al. Cardiac biomarkers but not measures of vascular atherosclerosis predict mortality in patients with peripheral artery disease. *Clin Chim Acta*. 2019;495:215-20. Doi: 10.1016/j.cca.2019.04.061
16. McDonnell B, Hearty S, Leonard P, O'Kennedy R. Cardiac biomarkers and the case for point-of-care testing. *Clin Biochem*. 2009;42(7-8):549-61. Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.01.019
17. Altintas Z, Fakanya WM, Tothill IE. Cardiovascular disease detection using bio-sensing techniques. *Talanta*. 2014;128:177-86. Doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.060
18. Gerszten R, Wang TJ. The search for new cardiovascular biomarkers. *Nature*. 2008;451(7181):949-52. Doi: 10.1038/nature06802
19. Qureshi A, Gurbuz Y, Niazi JH. Biosensors for cardiac biomarkers detection: A review. 2012(171-172):62-76. Doi: 10.1016/j.snb.2012.05.077
20. Aydin S, Ugur K, Aydin S, Sahin I, Yardim M. Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. 2019;15:1-10. Doi: 10.2147/VHRM.S166157
21. Christodoulides N, Pierre FN, Sanchez X, Li L, Hocquard K, Patton A, et al. Programmable bio-nanochip technology for the diagnosis of cardiovascular disease at the point-of-care. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2012;8(1):6-12. Doi: 10.14797/mdcj-8-1-6
22. de Boer RA, Daniels LB, Maisel AS, Januzzi-Jr JL. State of the Art: Newer biomarkers in heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2015;17(6):559-69. Doi: 10.1002/ejhf.273
23. Pouleur AC. Which biomarkers do clinicians need for diagnosis and management of heart failure with reduced ejection fraction? *Clin Chim Acta*. 2015;443:9-16. Doi: 10.1016/j.cca.2014.10.046
24. Richards AM. What we may expect from biomarkers in heart failure. *Heart Fail Clin*. 2009;5(4):463-70. Doi: 10.1016/j.hfc.2009.04.011.
25. Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016;4(10):194. Doi: 10.21037/atm.2016.05.19.
26. Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostinho-Sr RB, Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. *Gastroenterology*. 2008;135(6):1935-44. Doi: 10.1053/j.gastro.2008.09.018
27. Graeber GM, Shawl FA, Head HD, Wolf RE, Burge JR, Cafferty PK, et al. Changes in serum creatine kinase and lactate dehydrogenase caused by acute perioperative myocardial infarction and by transatrial cardiac surgical procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986;92(1):63-72.
28. York JW, Penney DG, Weeks TA, Stagno PA. Lactate dehydrogenase changes following several cardiac hypertrophic stresses. *J Appl Physiol*. 1976;40(6):923-6. Doi: 10.1152/jappl.1976.40.6.923
29. Preus M, Bhargava AS, Khater AE, Gunzel P. Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. *Toxicol Lett*. 1988;42(2):225-33. Doi: 10.1016/0378-4274(88)90081-1
30. Jaffe AS, Landt Y, Parvin CA, Abendschein DR, Geltman EM, Laderson JH. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1996;42(11):1770-6.
31. Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shikarimi G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension*. 1991;17(6 Pt 2):1152-5. Doi: 10.1161/01.hyp.17.6.1152
32. de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003;362(9380):316-22. Doi: 10.1016/S0140-6736(03)13976-1
33. 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(7):655-63. Doi: 10.1056/NEJMoa031994

34. Cheung BM, Kumana CR. Natriuretic peptides--relevance in cardiovascular disease. *JAMA*. 1998;280(23):1983-4. Doi: 10.1001/jama.280.23.1983
35. Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens*. 1992;10(10):1111-4. Doi: 10.1097/00004872-199210000-00002
36. Weir RAP, Miller AM, Murphy GEJ, Clements S, Steedman T, Connell JMC, et al. Serum soluble ST2: a potential novel mediator in left ventricular and infarct remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(3):243-50. Doi: 10.1016/j.jacc.2009.08.047
37. Dieplinger B, Mueller T. Soluble ST2 in heart failure. *Clin Chim Acta*. 2015;443:57-70. Doi: 10.1016/j.cca.2014.09.021
38. Weinberg EO, Shimp M, Hurwitz S, Tominaga SI, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation*. 2003;107(5):721-6. Doi: 10.1161/01.cir.0000047274.66749.fe
39. Pascual-Figal DA, Ordonez-Llanos J, Tornel PL, Vázquez R, Puig T, Valdés M, et al. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2174-9. Doi: 10.1016/j.jacc.2009.07.041
40. Ueland T, Gullestad L, Nymo SH, Yndestad A, Aukrust P, Askevold ET. Inflammatory cytokines as biomarkers in heart failure. *Clin Chim Acta*. 2015;443:71-7. Doi: 10.1016/j.cca.2014.09.001
41. Hao Z, Pan Y, Shao W, Lin Q, Zhao X. Graphene-based fully integrated portable nanosensing system for on-line detection of cytokine biomarkers in saliva. *Biosens Bioelectron*. 2019;134:16-23. Doi: 10.1016/j.bios.2019.03.053
42. Wollert KC, Kempf T, Wallentin L. Growth Differentiation Factor 15 as a Biomarker in Cardiovascular Disease. *Clin Chem*. 2017;63(1):140-151. Doi: 10.1373/clinchem.2016.255174
43. Wollert KC, Kempf T. Growth differentiation factor 15 in heart failure: an update. *Curr Heart Fail Rep*. 2012;9(4):337-45. Doi: 10.1007/s11897-012-0113-9
44. Kempf T, Haehling SV, Peter T, Allhoff T, Cicoira M, Doehner W, et al. Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(11):1054-60. Doi: 10.1016/j.jacc.2007.04.091
45. de Boer RA, Yu L, Veldhuis DJV. Galectin-3 in cardiac remodeling and heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2010;7(1):1-8. Doi: 10.1007/s11897-010-0004-x
46. de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, Gilst WHV, Veldhuis DJV. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail*. 2009;11(9):811-7. Doi: 10.1093/eurjhf/hfp097
47. Shah RV, Chen-Tournoux AA, Picard MH, Kimmenade RRJV, Januzzi JL. Galectin-3, cardiac structure and function, and long-term mortality in patients with acutely decompensated heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2010;12(8):826-32. Doi: 10.1093/eurjhf/hfq091
48. Ho JE, Liu C, Lyass A, Couchesne P, Pencina MJ, Vasan RS, et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the Community. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(14):1249-56. Doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.053
49. Johnston JR, Chase PB, Pinto JR. Troponin through the looking-glass: emerging roles beyond regulation of striated muscle contraction. 2018;9(1):1461-82. Doi: 10.18632/oncotarget.22879
50. Babuin L, Jaffe AS. Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *CMAJ*. 2005;173(10):1191-202. Doi: 10.1503/cmaj/051291.
51. Daubert MA, Jeremias A. The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. *Sci Health Risk Manag*. 2010;6:691-9. Doi: 10.2147/vhrm.s5306
52. Catarino SO, Rodrigues RO, Pinho D, Miranda JM, Minas G, Lima R. Blood Cells Separation and Sorting Techniques of Passive Microfluidic Devices: From Fabrication to Applications. *Micromachines (Basel)*. 2019;10(9):593. Doi: 10.3390/mi10090593
53. Faustino V, Catarino SO, Pinho D, Lima RA, Minas G. A Passive Microfluidic Device Based on Crossflow Filtration for Cell Separation Measurements: A Spectrophotometric Characterization. *Biosensors (Basel)*. 2018;8(4):125. Doi: 10.3390/bios8040125
54. Cui F, Rhee M, Singh A, Tripathi A. Microfluidic Sample Preparation for Medical Diagnostics. *Annu Rev Biomed Eng*. 2015;17:267-86. Doi: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040538
55. Helton KL, Nelson KE, Fu E, Yager P. Conditioning saliva for use in a microfluidic biosensor. *Lab Chip*. 2008;8:1847-1851
56. Jung DG, Jung D, Kong SH. A Lab-on-a-Chip-Based Non-Invasive Optical Sensor for Measuring Glucose in Saliva. *Sensors (Basel)*. 2017;17(11):2607. Doi: 10.3390/s17112607
57. Pinto V, Sousa P, Catarino SO, Correia-Neves M, Minas G. Microfluidic immunosensor for rapid and highly-sensitive salivary cortisol quantification. *Biosens Bioelectron*. 2017;90:308-313. Doi: 10.1016/j.bios.2016.11.067
58. Mishra S, Saadat D, Kwon O, Lee Y, Choi WS, Kim JH, et al. Recent advances in salivary cancer diagnostics enabled by biosensors and bioelectronics. *Biosens Bioelectron*. 2016;81:181-197. Doi: 10.1016/j.bios.2016.02.040
59. Cheng CS, Ou BR, Lung FD. Developing a Biosensor-Based Immunoassay to Detect HPV E6 Oncoprotein in the Saliva Rinse Fluid of Oral Cancer Patients. *J Pers Med*. 2022;12(4):594. Doi: 10.3390/jpm12040594

60. Wu J, Dong M, Santos S, Rigatto C, Liu Y, Lin F. Lab-on-a-Chip Platforms for Detection of Cardiovascular Disease and Cancer Biomarkers. *Sensors (Basel)*. 2017;17(12):2934. Doi: 10.3390/s17122934
61. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;37(42):3232-45. Doi: 10.1093/eurheartj/ehw334
62. Mirzaii-Dizgah I, Hejazi SF, Riahi E, Salehi MM. Saliva-based creatine kinase MB measurement as a potential point-of-care testing for detection of myocardial infarction. *Clin Oral Investig*. 2012;16(3):775-9. Doi: 10.1007/s00784-011-0578-z
63. Hanson. The inheritance of cardiovascular disease risk. *Acta Paediatr*. 2019;108(10):1747-1756. Doi: 10.1111/apa.14813
64. Sevrieva I, Knowles AC, Kampoukaris T, Sun YB. Regulatory domain of troponin moves dynamically during activation of cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;75:181-187. Doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.07.015
65. Park J, Sunkara V, Kim TH, Hwang H, Cho YK. A fully integrated multiplexed immunoassay on a disc. 15th International Conference on Miniaturized Systems for Chemistry and Life Sciences. 2011:1170-2. Available in: https://www.rsc.org/images/LOC/2011/PDFs/Papers/392_0377.pdf
66. Park J. A Fully Integrated Lab-on-a-Disc for Multiplex Immunoassay from Whole Saliva. Graduate School of UNIST. 2011. Available in: <https://scholarworks.unist.ac.kr/bitstream/201301/1125/1/A%20Fully%20Integrated%20Lab-on-a-Disc.pdf>
67. Rezaei Z, Ranjbar B. Ultra-sensitive, rapid gold nanoparticle-quantum dot plexcitonic self-assembled aptamer-based nanobiosensor for the detection of human cardiac troponin I. *Eng Life Sci*. 2017;17(2):165-174. Doi: 10.1002/elsc.201500188
68. Chekin F, Vasilescu A, Jijie R, Singh SK, Kurungot S, Iancu M, et al. Sensitive electrochemical detection of cardiac troponin I in serum and saliva by nitrogen-doped porous reduced graphene oxide electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018;262:180-87. Doi: 10.1016/j.snb.2018.01.215

This preprint was submitted under the following conditions:

- The authors declare that they are aware that they are solely responsible for the content of the preprint and that the deposit in SciELO Preprints does not mean any commitment on the part of SciELO, except its preservation and dissemination.
- The authors declare that the necessary Terms of Free and Informed Consent of participants or patients in the research were obtained and are described in the manuscript, when applicable.
- The authors declare that the preparation of the manuscript followed the ethical norms of scientific communication.
- The authors declare that the data, applications, and other content underlying the manuscript are referenced.
- The deposited manuscript is in PDF format.
- The authors declare that the research that originated the manuscript followed good ethical practices and that the necessary approvals from research ethics committees, when applicable, are described in the manuscript.
- The authors declare that once a manuscript is posted on the SciELO Preprints server, it can only be taken down on request to the SciELO Preprints server Editorial Secretariat, who will post a retraction notice in its place.
- The authors agree that the approved manuscript will be made available under a [Creative Commons CC-BY](#) license.
- The submitting author declares that the contributions of all authors and conflict of interest statement are included explicitly and in specific sections of the manuscript.
- The authors declare that the manuscript was not deposited and/or previously made available on another preprint server or published by a journal.
- If the manuscript is being reviewed or being prepared for publishing but not yet published by a journal, the authors declare that they have received authorization from the journal to make this deposit.
- The submitting author declares that all authors of the manuscript agree with the submission to SciELO Preprints.