

*Biomarcadores Cardíacos no Diagnóstico da
Síndrome Coronária Aguda*

Maria Luísa Borges Batista Bouwman

Dissertação

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

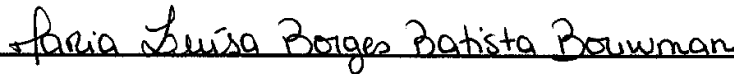
Trabalho efetuado sob a orientação de:

Dr.^a Delminda Simões

Biomarcadores Cardíacos no Diagnóstico da Síndrome Coronária Aguda

Declaração de Autoria:

“Declaro ser a autora deste trabalho que é original e inédito. Autores e trabalhos consultados estão devidamente citados no texto e constam da listagem de referências incluída”.



Maria Luísa Borges Batista Bouwman

Copyright©

“A Universidade do Algarve tem o direito, perpétuo e sem limites geográficos, de arquivar e publicitar este trabalho através de exemplares impressos reproduzidos em papel ou de forma digital, ou por qualquer outro meio conhecido ou que venha a ser inventado, de o divulgar através de repositórios científicos e de admitir a sua cópia e distribuição com objetivos educacionais ou de investigação, não comerciais, desde que seja dado crédito ao autor e editor”

“Aprender é a única coisa de que a mente nunca se cansa,
nunca tem medo e nunca se arrepende”

Leonardo da Vinci

Agradecimentos

À Dr.^a Delminda Simões, por ter prontamente aceite o meu convite e pela ajuda na orientação, pela enorme disponibilidade, dedicação, entusiasmo e força.

Ao Dr. Jorge Mimoso e à Dr.^a Olga Carreira, a quem humildemente agradeço, por aceitarem rever esta dissertação, contribuindo para a credibilidade da mesma.

Ao Dr. Luís Gajate pela disponibilidade e pela cedência de material bibliográfico.

À Professora Doutora Isabel Ramalinho, professora que mais marcou a minha passagem pela Universidade do Algarve, por ter aumentado ainda mais a minha paixão pela profissão farmacêutica, vibrando comigo nas minhas pequenas conquistas e ajudando-me a ultrapassar os momentos menos bons, sem nunca me deixar desistir. É para mim um exemplo e fonte de inspiração, quer em termos académicos, quer em termos profissionais. A todos os professores da Universidade do Algarve, que contribuíram para a minha formação, o meu agradecimento.

À Professora Rosário Domingues, ao Professor Pedro Domingues e à Professora Teresa Herdeiro, também farmacêuticos que, aquando da minha passagem pela Universidade de Aveiro, me incentivaram sempre a seguir o meu sonho de ser farmacêutica.

Aos meus amigos da faculdade, Eliano, Afonso, Vera e Juliana, por me terem ajudado imenso na minha integração, no 1º ano. À Teresinha, pelos passeios, à Chica pelas gargalhadas, cumplicidade, pelos sonhos e projetos que temos em comum. À Sara, pelos dias e longas noites de estudo, pelo apoio mútuo e, sobretudo, pela amizade e companheirismo. Ao Pedro, pelo apoio constante e preciosa ajuda informática.

À equipa da Farmácia Rebelo Pereira, onde dei os meus primeiros passos na profissão, nos estágios de verão, desde 2010. Um agradecimento especial à gerência da farmácia (Sr. Manuel e D. Teresa), pela oportunidade e pela confiança que depositaram em mim.

À enfermeira Sara, com quem tive o gosto de colaborar todos os dias.

Obrigada, do fundo do coração, à minha orientadora de estágio, Dr.^a Rita Araújo, pelas aprendizagens e pela calma, paciência e perseverança que sempre admirei e que um dia espero conseguir alcançar.

À equipa dos Serviços Farmacêuticos do Centro Hospitalar de Gaia-Espinho por me ter recebido de forma tão calorosa e um agradecimento muito especial à Dr.^a Aida Batista, diretora dos Serviços Farmacêuticos e à Dr.^a Cláudia Neto por toda a disponibilidade e ajuda ao longo do estágio em Farmácia Hospitalar.

Aos meus pais. Aos meus avós. Bem hajam!

Resumo

A cardiopatia isquêmica (CI) é uma afeção na qual ocorre um suprimento inadequado de sangue e oxigênio para o miocárdio. A CI poder-se-á apresentar sob a forma de doença coronária estável crônica ou síndrome coronária aguda (SCA).

A SCA engloba doentes que apresentam enfarte agudo do miocárdio (EM) com supradesnivelamento do segmento ST, EM sem supradesnivelamento do segmento ST e angina instável.

O sintoma clássico de EM é a dor torácica constritiva, intensa, habitualmente localizada na região retrosternal, precordial ou epigástrica com irradiação para o pescoço, ombro e/ou braço esquerdo. No entanto, uma percentagem não negligenciável de doentes com EM não apresenta dor torácica, tendo um quadro clínico atípico com aumento de biomarcadores cardíacos.

Os biomarcadores cardíacos são proteínas libertadas pelo miocárdio necrótico ou isquémico. Os níveis das diferentes proteínas libertadas variam de acordo com a sua localização intracelular, o seu peso molecular e os fluxos sanguíneos e linfáticos locais. A cinética de libertação destas proteínas tem importância para o diagnóstico, embora as estratégias de reperfusão urgentes no EM com supradesnivelamento do segmento ST, imponham que a decisão seja tomada, essencialmente baseada na apresentação clínica e no eletrocardiograma (ECG).

Um marcador cardíaco ideal deve apresentar características de cardioespecificidade e sensibilidade, aparecer bastante cedo na circulação, permitindo a deteção precoce de EM; possuir uma semivida suficientemente longa que possibilite o diagnóstico tardio; apresentar aumentos que se relacionem com o prognóstico; ser doseado a partir de um método que seja facilmente adaptado à urgência com uma boa sensibilidade e precisão analíticas. O marcador mais próximo deste ideal é a troponina - isoformas T e I - sendo estas as atualmente consideradas como marcadores bioquímicos de referência para o diagnóstico de EM.

O objetivo desta dissertação é fazer uma revisão da literatura de biomarcadores cardíacos no que diz respeito à sua estrutura, características, métodos de doseamento, função e relevância clínica para o diagnóstico e prognóstico na SCA e na estratificação do risco de eventos cardíacos adversos.

Palavras-chave: síndrome coronária aguda, enfarte agudo do miocárdio, marcadores cardíacos, troponinas

Abstract

Ischemic heart disease (IHD) refers to a lack of oxygen due to inadequate perfusion of myocardium. Patients with ischemic heart disease fall into two large groups: patients with stable angina secondary to chronic coronary artery disease and patients with acute coronary syndrome (ACS).

Acute coronary syndrome is composed by patients with acute myocardial infarction (MI) with ST-segment elevation and those with unstable angina (UA) and non-ST-segment elevation MI.

The clinical hallmark of MI is chest pain, typically located in the substernal region or sometimes in the epigastrium that frequently radiates to the neck, left shoulder, and left arm. However, a not negligible percentage of MI remains silent and is not detected by electrocardiography (ECG) with increased cardiac biomarker.

The cardiac biomarkers are proteins released by necrotic or ischemic myocardium. The levels of the different proteins released vary according to their molecular weight and the blood flow and lymphatic sites. The release kinetics of these proteins is important for the diagnosis, although reperfusion strategies in MI with ST-segment elevation require an urgent decision made primarily based on clinical presentation and ECG.

An ideal cardiac marker should display characteristics like cardiospecificity and sensitivity; appears quite early in the circulation, allowing early detection of MI; has a sufficiently long half-life that permits late diagnosis; present increases that relate to prognosis; be determined from a method that is easily adapted to the emergency with good sensitivity and analytical accuracy.

The marker closest to this ideal is the troponin - T and I isoforms - these being currently regarded as the gold standard biochemical markers for the diagnosis of MI.

The purpose of this dissertation is to review the literature of cardiac biomarkers with respect to its structure, characteristics, assay methods, function and clinical relevance in diagnosis and prognosis of ACS and risk stratification of cardiac events.

Keywords: Acute coronary syndrome, myocardial infarction, cardiac biomarkers, troponin

Índice

Introdução	1
1 Síndrome Coronária Aguda.....	2
1.1 Definição e Classificação	2
1.2 Epidemiologia	3
1.3 Etiologia	7
1.4 Fisiopatologia.....	8
1.5 Fatores de Risco	20
1.5.1 Fatores de Risco Não Modificáveis.....	21
1.5.2 Fatores de Risco Modificáveis	24
1.5.3 Fatores de Risco Emergentes	29
1.6 Efeitos da Isquemia e Necrose	33
1.7 Diagnóstico da Síndrome Coronária Aguda.....	34
1.7.1 Apresentação Clínica.....	34
1.7.2 O eletrocardiograma	36
1.7.3 Biomarcadores Cardíacos.....	38
2 Biomarcadores Cardíacos.....	39
2.1 Definição de Biomarcador	39
2.2 Perspetiva Histórica.....	40
2.3 Biomarcadores Cardíacos Laboratoriais	41
2.3.1 Biomarcadores Ultrapassados	42
2.3.2 Marcadores Atuais.....	50
3 Novos Biomarcadores	68
3.1 Marcadores de Isquemia.....	69
3.2 Marcadores de Necrose	75
3.3 Marcadores de Inflamação	83
3.4 Outros Biomarcadores.....	107
3.4.1 Biomarcador de Disfunção Cardíaca.....	107
3.4.2 Biomarcadores de Stress	110
Conclusão.....	114

Lista de Abreviaturas

- ACC** – *American College of Cardiology*
- ACS** – *Acute Coronary Syndrome*
- ADP** – Adenosina difosfato
- ADN** – Ácido desoxirribonucleico
- AE** – Angina Estável
- AHA** – *American Heart Association*
- AI** – Angina Instável
- Apo A** – Apolipoproteína A
- Apo B** – Apolipoproteína B
- AST** – Aspartato aminotransferase
- ATP** – Adenosina trifosfato
- AVC** – Acidente Vascular Cerebral
- AVP** – Arginina-vasopressina
- BCRE** – Bloqueio completo do ramo esquerdo
- BNP** – *Brain Natriuretic Peptide*
- CI** – Cardiopatia isquémica
- CK** – Creatina Cinase
- CK-MB** – Isoenzima MB da Creatina Cinase
- CMV** – Citomegalovírus
- cMyBP-C** – *Cardiac myosin binding protein-C*
- CRP** – *C-Reactive Protein*
- cTnI** – Troponina cardíaca I
- cTnT** – Troponina cardíaca T
- CV** – Coeficiente de variação
- DCV** – Doença Cardiovascular
- DGS** – Direção Geral de Saúde
- DM** – *Diabetes Mellitus*
- DTT** - Dititreirol

ECG – Eletrocardiograma

EDTA – *Ethylenediamine tetraacetic acid*

ELISA – *Enzyme linked immunosorbent assay*

EM – Enfarte do Miocárdio

EMCSDST – Enfarte do Miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST

EMSSDST – Enfarte do Miocárdio sem supradesnivelamento do segmento ST

EM-sQ – Enfarte do Miocárdio sem onda Q

EM-Q – Enfarte do Miocárdio com onda Q

ESC – *European Society of Cardiology*

FABP – *Fatty acid binding protein*

FDA – *Food and Drug Administration*

FFA – *Free fatty acids*

GDF-15 – *Growth Differentiation factor 15*

GOT – *Glutamine Oxalacetic Acid Transaminase*

HDL – *High Density lipoprotein*

h-FABP – *Heart fatty acid binding protein*

HPLC – *High performance liquid chromatography*

HPLC-MS – *High performance liquid chromatography coupled mass spectroscopy*

HTA – Hipertensão arterial

IDL – *Intermediate density lipoprotein*

IFMA – *Immunofluorometric assay*

IGF – *Insulin-like growth factor*

IGFBP – *Insulin-like growth factor binding protein*

IHD – *Ischemic heart disease*

IMA – *Ischemic modified albumin*

IMC – Índice de Massa Corporal

KDa - Kilodaltons

LD – Lactato Desidrogenase

LDL – *Low density lipoprotein*

LP-PLA₂ – *Lipoprotein-associated phospholipase A2*

- MAPK** – *Mitogen-activated protein kinases*
- MMP** – *Matrix metalloproteinase*
- MPO** - *Myeloperoxidase*
- Mvo₂**- *Myocardial oxygen consumption*
- NACB** – *National Academy of Clinical Biochemists*
- NAD⁺** - *Dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado*
- OR** – *Odds ratio*
- PA** – *Phosphatidic acid*
- PAI-1** – *Plasminogen Activator Inhibitor*
- PAPP-A** – *Pregnancy-associated plasma protein*
- PCTA** – *Percutaneous transluminal coronary angioplasty*
- PIGF** – *Placental growth factor*
- PLD** – *Fosfolipase D*
- RIA** – *Radioimuno assay*
- ROC** – *Receiver operating characteristic*
- SCA** – *Síndrome Coronária Aguda*
- sCD40 L** – *soluble CD40 ligand*
- sPLA₂-II** – *Type II secretory phospholipase A2*
- THS** – *Terapia hormonal de substituição*
- TIMP** – *Tissue inhibitor of metalloproteinases*
- TNF- α** – *Tumor Necrosis Factor*
- t-PA** – *Tissue Plasminogen Activator*
- uFFA** – *Unbounded free fatty acids*
- UA** – *Unstable angina*
- URL** – *Upper Reference Limit*
- VEGF** – *Vascular endotelial growth factor*
- VLDL** – *Very low density lipoprotein*
- VPN** – *Valor preditivo negativo*
- VPP** – *Valor preditivo positivo*

Introdução

Apesar do enorme progresso na medicina cardiovascular, a síndrome coronária aguda (SCA), ou seja, o enfarte do miocárdio (EM) e a angina instável (AI), permanecem como principal causa de mortalidade e morbidade, em particular nos países industrializados.⁽¹⁻⁶⁾ Muitos doentes que sofrem um episódio de SCA nunca tiveram um sintoma prévio. Por outro lado, há relatórios que mostram que 2 a 4 % dos doentes com EM são esquecidos nos serviços de urgência dos hospitais e 7 a 16% dos doentes com SCA sofrem um re-enfarte ou morrem dentro de 30 dias após o primeiro episódio. Assim, ser capaz de diagnosticar com a maior rapidez possível os doentes com SCA e ser capaz de prever os que estão em risco de, num futuro próximo, sofrerem um evento trombótico, torna-se um dos principais desafios da medicina cardiovascular.⁽⁷⁻¹⁰⁾

Os biomarcadores cardíacos específicos têm sido uma ferramenta útil na abordagem mais recente da SCA. Atualmente, as troponinas cardíacas (cTn) são consideradas o *gold standard* dos biomarcadores de diagnóstico para o EM.⁽⁹⁻¹¹⁾ Tanto a troponina cardíaca I (cTnI), como a troponina cardíaca T (cTnT) são altamente sensíveis e específicas. Também revelam ser muito úteis em termos de prognóstico, sendo marcadores de risco de morte, EM e necessidade futura de revascularização.^(8-10,12-16) Apesar disso, têm limitações: não são detetáveis antes das 4 a 6 horas após o início dos sintomas. Além do mais, muitos doentes de alto risco com isquemia cardíaca aguda não apresentam necrose miocárdica e, por isso, não são identificados pelas troponinas.^(8-10,12-16)

Por isso, a procura de um biomarcador ideal tem continuado a despertar o interesse da comunidade científica, sendo que, ultimamente, as atenções se têm voltado para aqueles que constituem os “novos biomarcadores” e que são, sobretudo, biomarcadores de isquemia, inflamação, instabilidade da placa, e de *stress* oxidativo.^(8,9) O que se pretende com estes novos biomarcadores é colmatar as limitações das troponinas: encontrar um biomarcador cardíaco altamente específico e sensível, logo nas primeiras horas após o início dos sintomas. Caracterizar estes novos biomarcadores em termos de sensibilidade, especificidade, valor preditivo negativo, valor preditivo positivo, técnicas de doseamento e *cutoff* é essencial para definir o papel de cada um em contexto clínico.

1 Síndrome Coronária Aguda

1.1 Definição e Classificação

A Síndrome Coronária Aguda (SCA) é um termo operacional usado para descrever uma constelação de sintomas resultantes de isquemia aguda do miocárdio: angina instável, enfarte agudo do miocárdio (EM) e morte súbita. ^(1,2,17-20)

A atual nomenclatura divide a SCA em dois grandes grupos (Figura 1.1) ^(17,21):

- Enfarte do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST (EMCSDST) – SCA em que os doentes apresentam desconforto torácico e critérios no eletrocardiograma (ECG) sugestivos ou bloqueio completo do ramo esquerdo (BCRE) “de novo”;
- Síndrome coronária aguda sem supradesnivelamento do segmento ST ou angina instável (AI) em que os doentes apresentam um quadro clínico sugestivo de evento coronário agudo sem critérios eletrocardiográficos de EMCSDST ou BCRE “de novo”. Se existir evidência bioquímica de lesão miocárdica, o quadro clínico é denominado enfarte do miocárdio sem supradesnivelamento do segmento ST (EMSSDST) e, na ausência de evidência bioquímica de lesão miocárdica, é designado como AI.

Ainda a respeito da nomenclatura da SCA, convém referir que a maioria dos doentes com SDST desenvolve em última instância EM com onda Q (EM-Q), e quando tal não acontece designam-se EM sem onda Q (EM-sQ). ^(17,19,22)

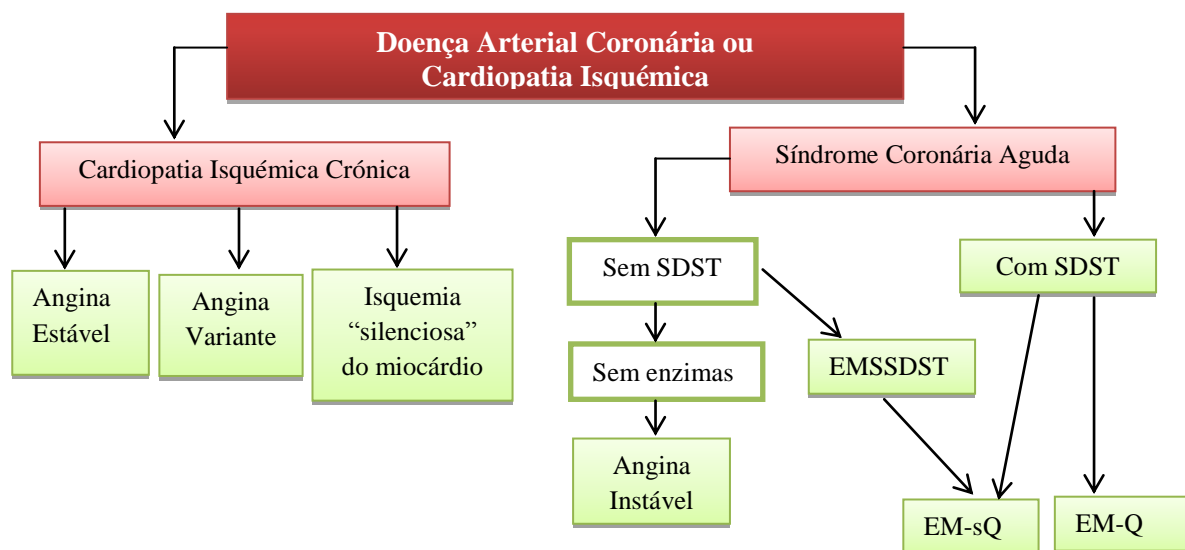


Figura 1.1- Nomenclatura da cardiopatia isquémica e da SCA (Adaptado de *Manual Oxford de Cardiologia*, 2012)

1.2 Epidemiologia

As doenças cardiovasculares (DCV) representam a principal causa de morte e invalidez nos países industrializados, sendo que a doença coronária isquêmica está em primeiro lugar, e o acidente vascular cerebral (AVC) em segundo, na lista de doenças que mais matam.^(1,2,17,18,23,24) O número total de pessoas que morre destas duas doenças é de 15 milhões por ano, o que representa aproximadamente 30% de todas as mortes no Mundo. Admite-se que estes números venham a aumentar nas próximas décadas, tanto em valor absoluto como em valor relativo comparativamente a outros grupos de doenças.⁽²⁾

Apesar dos progressos no tratamento das doenças cardiovasculares, as pessoas continuam a morrer destas doenças, embora em idades mais tardias.⁽³⁾

Nos Estados Unidos da América (EUA), a incidência anual estimada de EM é de 610 000 novos casos e 325 000 ataques recorrentes.⁽⁵⁾

Em 2008 a doença coronária causou 405309 mortes o que significa que, aproximadamente, uma em cada seis mortes nos EUA é devida a doença coronária.⁽⁵⁾

A cada 25 segundos, aproximadamente, um americano é vítima de um evento coronário e, aproximadamente, a cada minuto alguém morre de um desses eventos.⁽⁵⁾

Perto de 34% dos indivíduos que sofrem um evento coronário num dado ano irá morrer desse mesmo evento^(5,24) e, aproximadamente, 15% dos doentes que sofreram um EM vão morrer em consequência disso. A cada 34 segundos um americano tem um EM.⁽⁵⁾

Na Europa, as doenças coronárias são a primeira causa de morte, representando 1,8 milhões de mortes por ano. Isto significa que um em cada cinco homens morre de doença coronária (20%) (Gráfico 1.1) e uma em cada cinco mulheres morre desta doença (22%) (Gráfico 1.2).⁽⁶⁾

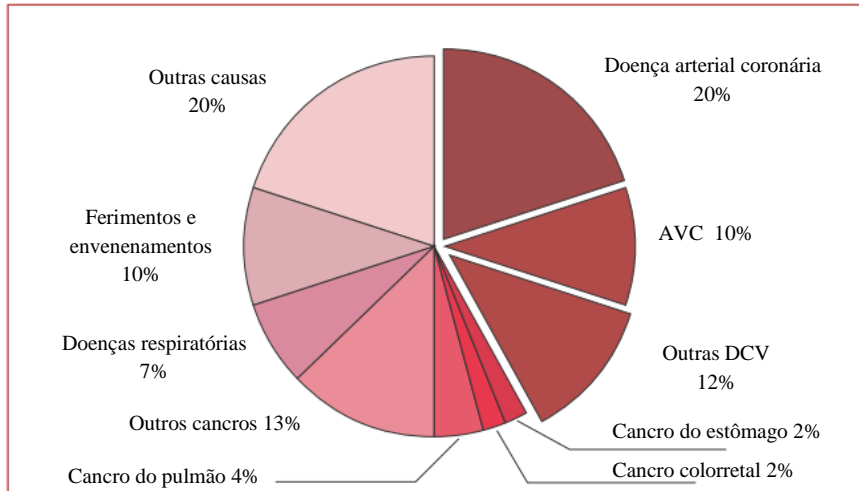


Gráfico 1.1: Causas de morte em indivíduos do sexo masculino, na Europa, no ano de 2012; AVC: Acidente Vascular Cerebral; DCV: Doenças Cardiovasculares (Adaptado de *European Society of Cardiology, 2012*)

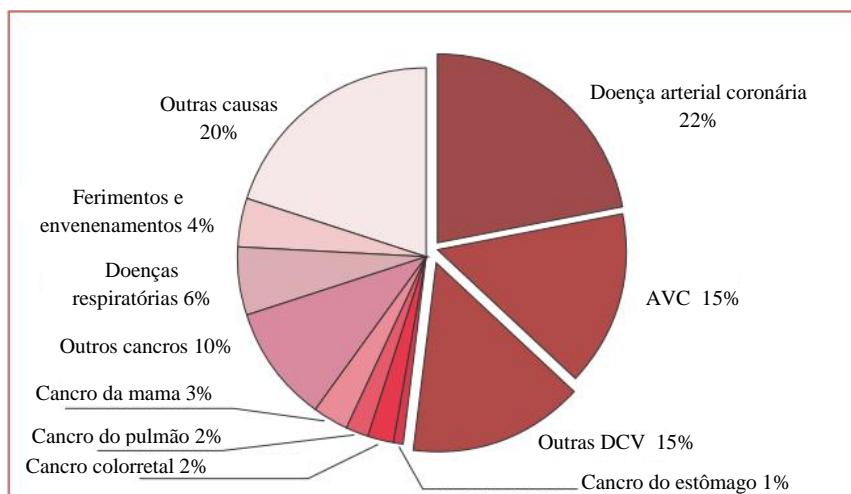


Gráfico 1.2: Causas de morte em indivíduos do sexo feminino, na Europa, no ano de 2012; AVC: Acidente vascular cerebral; DCV: Doenças cardiovasculares (Adaptado de *European Society of Cardiology, 2012*)

Na União Europeia, a doença coronária também representa a principal causa de morte: 681 000 mortes por ano (15% nos homens e 14% nas mulheres). (Gráfico 1.3 e Gráfico 1.4).⁽⁶⁾

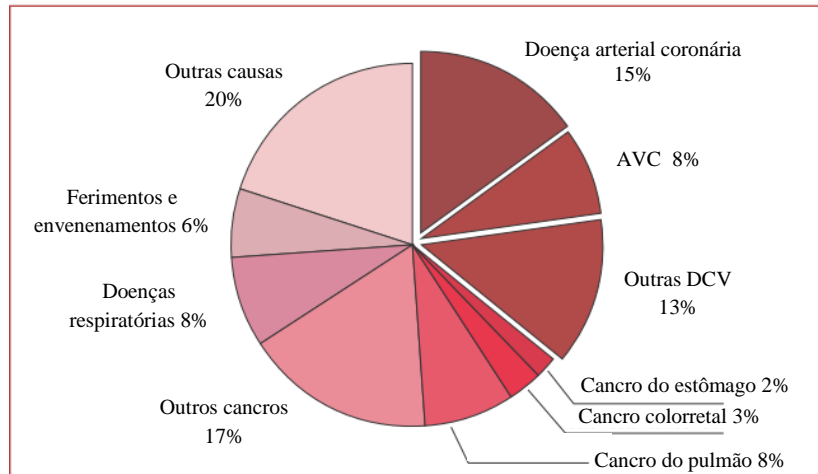


Gráfico 1.3: Causas de morte em indivíduos do sexo masculino, na União Europeia, no ano de 2012; AVC: acidente vascular cerebral; DCV: doenças cardiovasculares (Adaptado de *European Society of Cardiology, 2012*)

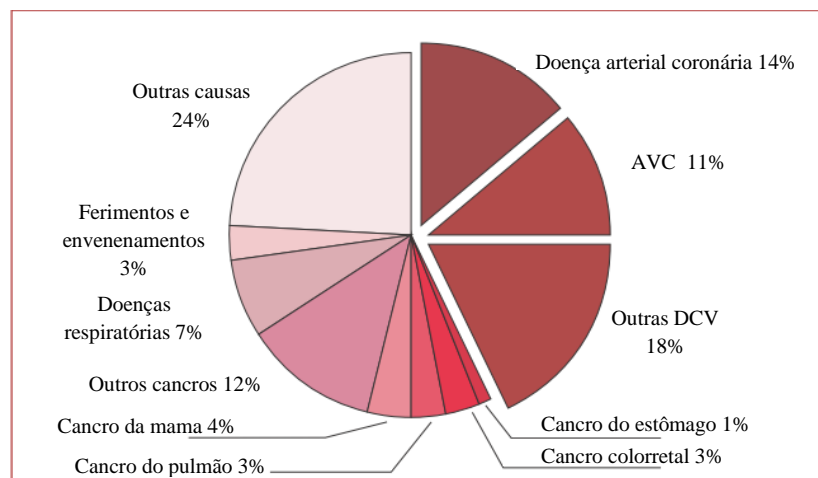


Gráfico 1.4: Causas de morte em indivíduos do sexo feminino, na União Europeia, no ano de 2012; AVC: acidente vascular cerebral; DCV: doenças cardiovasculares (Adaptado de *European Society of Cardiology, 2012*)

Em Portugal, tal como em todos os países europeus, as doenças cardiovasculares (incluídas nas doenças do aparelho circulatório) são a principal causa de morte. No entanto, é de salientar que, nas últimas duas décadas, se verifica uma redução na taxa de mortalidade por estas doenças, oposta à tendência progressiva das doenças oncológicas. (Gráfico 1.5).⁽²⁵⁾

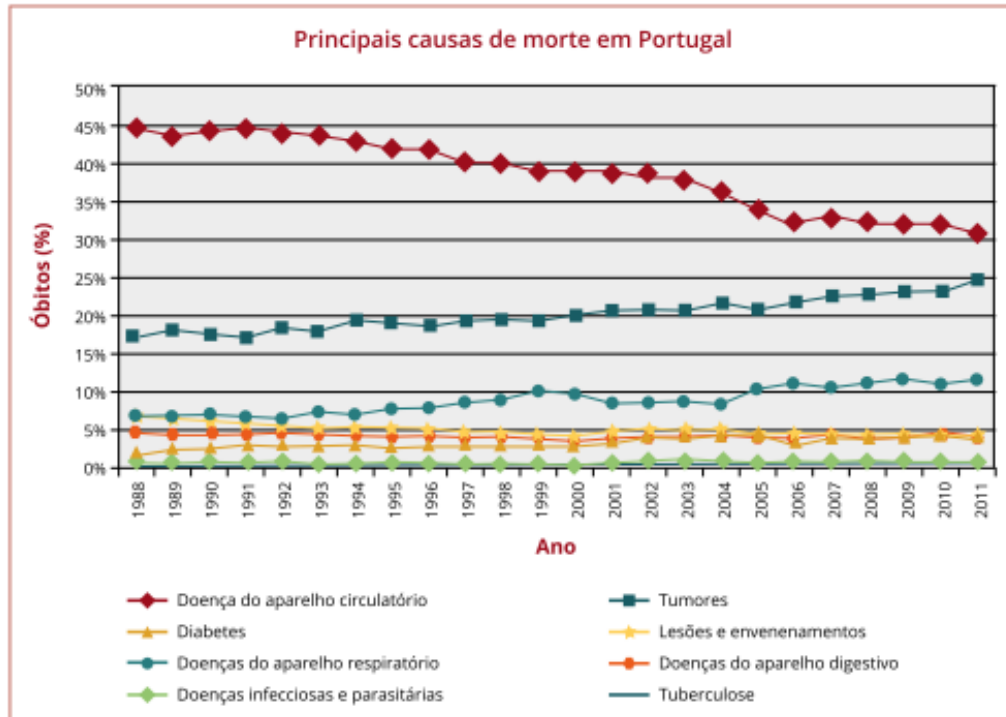


Gráfico 1.5: Óbitos (em %) pelas principais causas de morte em Portugal entre 1988 e 2011. (Direção Geral de Saúde, 2013)

Este fenómeno pode dever-se a vários fatores: adoção de medidas estratégicas preventivas, nomeadamente a Lei da cessação tabágica e a Lei da redução do conteúdo em sal no pão, com conseqüente melhoria no diagnóstico, e correção de fatores de risco modificáveis e ainda os avanços significativos no tratamento de situações clínicas de maior mortalidade (EM e AVC).⁽²⁵⁻²⁷⁾

De seguida, apresenta-se o gráfico com a taxa de mortalidade padronizada por enfarte agudo do miocárdio, por 100 000 habitantes, em Portugal Continental. Verifica-se uma variação negativa de 2007 para 2011 de 22,19%.⁽²⁵⁾ (Gráfico 1.6)

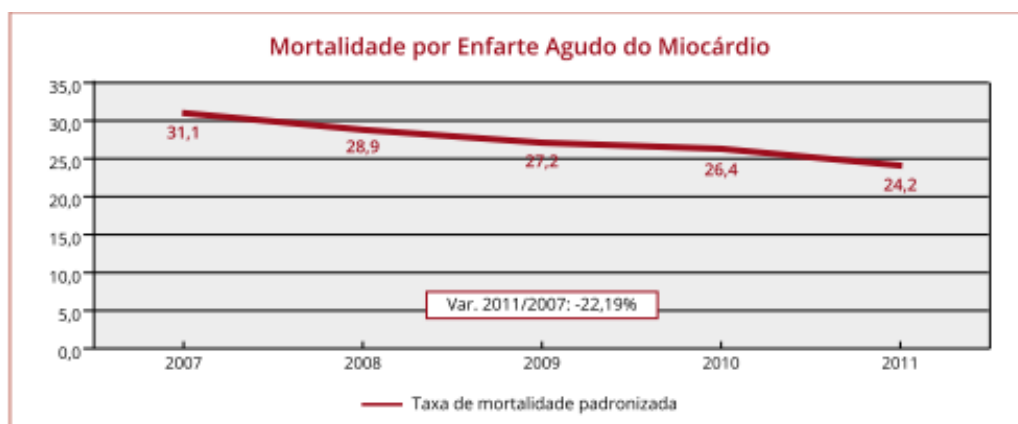


Gráfico 1.6: Taxa de mortalidade padronizada por enfarte agudo do miocárdio, por 100 000 habitantes, em Portugal Continental entre 2007 e 2011. (Direção Geral de Saúde, 2013)

1.3 Etiologia

A cardiopatia isquêmica resulta, em mais de 90% dos casos, da doença aterosclerótica, enquanto, nos restantes casos, a causa pode ser não aterosclerótica. ^(3,19,24)

A aterosclerose é um tipo de arteriosclerose ou endurecimento das artérias. ^(19,28) O termo aterosclerose deriva das palavras gregas *atheros*, que significa pasta ou material liquefeito e *esclerose* que significa endurecimento. ^(3,21) Esta doença consiste no aparecimento de lesões fibrogordurosas na íntima arterial, em artérias de tamanho médio/grande. ^(1-3,17-19,21,24) As lesões ateroscleróticas nas artérias coronárias são distribuídas em uma ou mais dos três principais troncos arteriais coronários, com maior incidência no ramo descendente anterior da coronária esquerda (40-50%), seguindo-se a artéria coronária direita (30-40%) e por fim, com menor frequência, no ramo circunflexo da artéria coronária esquerda (15-20%). ⁽¹⁹⁾ (Figura 1.2)

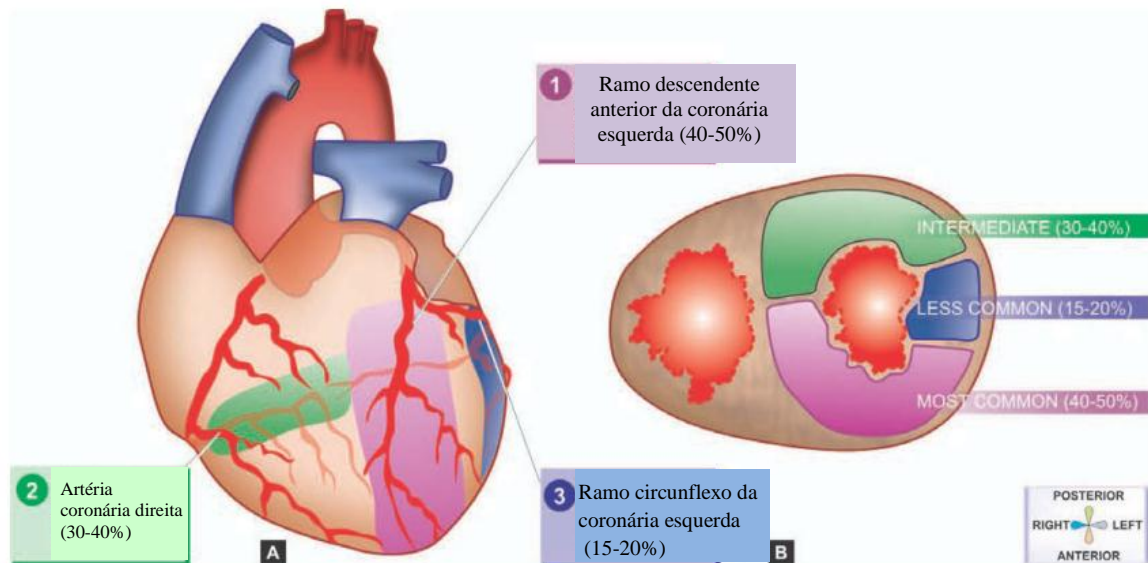


Figura 1.2 - Regiões do miocárdio afetadas pela estenose dos três troncos coronários. 1) Ramo descendente anterior da coronária esquerda; 2) Artéria coronária direita; 3) Ramo circunflexo da artéria coronária esquerda. Na imagem A está representada a superfície anterior e na imagem B está representada uma secção transversal do coração.

(Adaptado de Mohan, 2010)

Assim, a síndrome coronária aguda é frequentemente despoletada pela rutura de uma placa aterosclerótica instável, com conseqüente formação de um trombo rico em plaquetas que cobre a lesão, causando estreitamento ou oclusão da artéria coronária. ^(19,21-23,29)

Relativamente às causas não ateroscleróticas, estas podem estar relacionadas com os seguintes distúrbios ⁽³⁾:

- Anormalidades congénitas (existência de apenas uma artéria coronária, por exemplo)
- Êmbolos (tumores, cálcio)
- Dissecação (aorta ou artéria coronária)
- Espasmo
- Trauma (cirurgia, cateterização)
- Arterite (Síndrome de Kawasaki, sífilis)
- Distúrbios metabólicos (homocisteínuria)
- Proliferação intimal (hiperplasia fibromuscular)
- Compressão esternal (metástases tumorais, aneurisma da aorta)
- Drogas de abuso (cocaína e anfetaminas)
- Desequilíbrio entre necessidade e fornecimento de oxigénio ao miocárdio (intoxicação com monóxido de carbono, hipotensão sistémica)
- Doença arterial coronária intramural (cardiomiopatia hipertrófica)

Nesta dissertação, as causas não ateroscleróticas não serão desenvolvidas, uma vez que a sua contribuição para o despoletar da SCA não é significativa, tendo por isso sido dada mais ênfase à aterosclerose.

1.4 Fisiopatologia

A isquemia do miocárdio na doença arterial coronária é uma condição que resulta do fluxo inadequado de sangue relativamente às necessidades metabólicas do miocárdio, com conseqüente redução da libertação de oxigénio e dos substratos metabólicos juntamente com a redução da capacidade de eliminar os produtos do metabolismo. ^(1,24)

Assim sendo, a hipoxia miocárdica e conseqüente metabolismo anaeróbio são duas características básicas do processo de isquemia. ⁽¹⁾

A isquemia do miocárdio é uma das principais conseqüências da doença arterial coronária aterosclerótica, contribuindo para o aparecimento de situações clínicas como: angina estável, angina instável e isquemia silenciosa. Apesar de, tradicionalmente, a terminologia médica ter equiparado a isquemia do miocárdio à angina de peito, é agora amplamente aceite que é possível ocorrer isquemia sem sintomas que a identifiquem – isquemia “silenciosa”. ⁽¹⁾ A aterosclerose é uma doença da parede arterial desencadeada por um processo inflamatório associado à formação de uma placa de ateroma na íntima da parede arterial. ^(1-3,17-19,24)

A aterosclerose é uma doença da íntima de médias e grandes artérias sistêmicas incluindo a aorta, ileofemural, coronária, carótida (bifurcação) e, em menor extensão, artérias intracranianas. Por razões que ainda se desconhecem, algumas artérias são altamente resistentes à aterosclerose, como é o caso das artérias intramiocárdiais, enquanto as artérias coronárias epicárdiais parecem ser mais suscetíveis no organismo humano. ⁽³⁾

Tradicionalmente, a aterosclerose tem sido vista como uma doença degenerativa que afeta predominantemente pessoas idosas, desenvolvendo-se progressivamente ao longo de vários anos e, eventualmente, conduzindo a sintomas através de efeitos mecânicos no fluxo sanguíneo. ⁽²⁾ Atualmente, é reconhecida como uma doença com períodos de atividade e quiescência, com expressão focal apesar de ser uma doença sistêmica, pelo que o envolvimento dos diferentes territórios vasculares orgânicos não é uniforme. ⁽³⁰⁾

O Comitê de Lesões Vasculares do Conselho de Aterosclerose da Associação Americana do Coração (AHA) definiu, numa série de três publicações na revista *Circulation*, conceitos importantes para a compreensão da doença aterosclerótica: “íntima arterial normal” e “regiões propensas à aterosclerose”, no primeiro relatório, “lesões iniciais assintomáticas” no segundo relatório e “lesões avançadas e potencialmente sintomáticas” no terceiro relatório.

Sem dúvida que, para compreender a aterosclerose, é necessário conhecer bem a estrutura e função da artéria. Recordando conceitos básicos, histologicamente, todas as artérias têm três componentes estruturais (túnicas) ^(19,28,30) (Figura 1.3):

- 1- adventícia, que transporta sangue e inervação para a artéria propriamente dita;
- 2- média, com músculo liso vascular e que controla o tónus vascular;
- 3- íntima, com um revestimento basal coberto por endotélio que regula a hemóstase, a trombose, o tónus e a permeabilidade vascular.

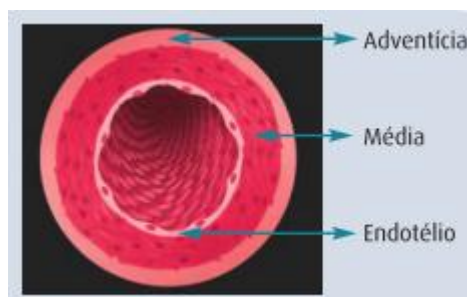


Figura 1.3 - Representação da artéria com as três túnicas: adventícia, média e íntima com endotélio. (Associação Portuguesa de Cardiologia, 2007)

A íntima arterial é definida como a região a partir da parede arterial incluindo a superfície endotelial do lúmen até à margem luminal da camada média.^(19,28,31) É composta por duas camadas: a camada interior, subjacente ao lúmen, designa-se de *camada de proteoglicanos*, uma vez que contém em abundância tecido conjuntivo não fibroso reticulado, identificado como sendo uma base de proteoglicanos e a *camada musculoesquelética*, subjacente à túnica média e assim nomeada pela presença abundante de células do músculo liso e fibras elásticas.⁽³¹⁾

A espessura da íntima arterial não é uniforme: existem segmentos espessos da íntima em artérias obtidas de indivíduos saudáveis em todas as idades. Estes segmentos podem ser focais ou difusos e representam adaptações fisiológicas a alterações de fluxo e tensão da parede arterial.^(3,31)

Quando a aterosclerose se desenvolve, as lesões formam-se primeiro em algumas regiões onde há um espessamento adaptativo da íntima. A distribuição topográfica do espessamento intimal focal e das lesões ateroscleróticas é semelhante nas artérias coronárias, renais, artéria carótida ao nível dos seios carotídeos e na aorta.^(3,31)

As regiões suscetíveis são designadas de regiões suscetíveis à aterosclerose (*atherosclerosis-prone areas*).^(3,31)

Alguns indivíduos são mais suscetíveis à aterosclerose do que outros.⁽³⁾ Por exemplo: os homens são, no geral, mais suscetíveis do que as mulheres. Isto porque, os níveis de espessura são maiores na túnica intimal das artérias dos homens.⁽³¹⁾

Relativamente às células que fazem parte da túnica íntima arterial, os principais componentes são as *células endoteliais* e as *células musculares*, embora alguns *macrófagos* isolados também possam estar presentes.⁽³¹⁾

As *células endoteliais* contêm uma variedade de recetores de membrana, tais como recetores LDL, insulina e histamina. Sob condições normais, o endotélio não possibilita a aderência de plaquetas ou a formação de trombos. Esta propriedade de tromborresistência pensa-se que esteja relacionada com o conteúdo em trombomodulina das células endoteliais que se liga à trombina. Este complexo trombomodulina-trombina ativa a proteína C, com a proteína S como cofator, e inativa o fator de coagulação Va. Por outro lado, a tromborresistência pode também dever-se ao facto de as células endoteliais serem capazes de metabolizar os agentes agregantes das plaquetas

(adenosina difosfato, serotonina, angiotensina, prostaglandina F1) e de sintetizar e segregar ativadores do plasminogénio tipo tecidual (t-PA), uroquinase (u-PA) e prostaciclina. O endotélio arterial normal também não possibilita a aderência de grande número de leucócitos. Outra propriedade funcional do endotélio normal é a regulação do tónus vascular e da constrição. ⁽³¹⁾

Na Tabela 1.1 estão enumeradas as funções das células endoteliais na íntima arterial.

Tabela 1.1 - Funções das células endoteliais na íntima arterial. (Adaptado de *American Heart Association, 1992*)

Função	Exemplos de propriedades
Barreira de permeabilidade	<ul style="list-style-type: none"> • Superfície carregada e presença de glicocálice • Junções <i>tight</i> • Tamanho do poro das vesículas transcitóticas • Membrana de base
Tromborresistência	<ul style="list-style-type: none"> • Membrana plasmática rica em trombomodulina • Rápido metabolismo dos agentes agregantes plaquetários • Síntese e secreção de prostaciclina e ativador do plasminogénio
Mediação do tónus vascular	<ul style="list-style-type: none"> • Síntese e secreção de prostaciclina e endotelina
Resposta inflamatória e imune	<ul style="list-style-type: none"> • Expressão de moléculas de adesão aos leucócitos, proteínas quimostáticas, fatores de crescimento, fatores hematopoiéticos, antígenos do complexo de histocompatibilidade.

As células musculares

Existem dois tipos de células musculares na íntima arterial: células musculares ricas em miofilamentos (camada musculo-elástica) e células musculares ricas em retículo endoplasmático rugoso (camada rica em proteoglicanos). ⁽³¹⁾

Um aumento no número de células musculares na íntima desenvolve-se por mitose, em resposta a moléculas reguladoras do crescimento, nomeadamente, fatores de crescimento. ⁽³¹⁾

As células musculares têm a capacidade de remover lipoproteínas, por expressão de recetores LDL e/ou pela fagocitose. ⁽³¹⁾

A Tabela 1.2 apresenta as propriedades funcionais das células musculares na camada íntima de uma artéria.

Tabela 1.2 - Propriedades funcionais das células musculares lisas na íntima arterial (Adaptado de *American Heart Association, 1992*)

Função	Exemplos de Propriedades
Contratilidade	<ul style="list-style-type: none"> • Modulação do conteúdo de proteínas contrácteis
Manutenção da integridade estrutural	<ul style="list-style-type: none"> • Síntese e secreção de tecido conjuntivo (colagénio, elastina e proteoglicano) • Capacidade de proliferar através de recetores de fatores de crescimento e síntese e secreção de fatores de crescimento. • Capacidade de migrar
Metabolismo lipídico	<ul style="list-style-type: none"> • Remoção de depósitos de lipoproteínas através da expressão de recetores LDL e/ou fagocitose.

Os macrófagos

Tal como já foi referido, os macrófagos podem estar presentes como células isoladas em intervalos distantes e irregulares.⁽³¹⁾

As artérias coronárias humanas contêm macrófagos na íntima adjacente ao endotélio e as suas funções estão referidas na tabela seguinte:

Tabela 1.3 - Propriedades funcionais dos macrófagos na íntima arterial. (Adaptado de *American Heart Association, 1992*)

Função	Exemplos de Propriedades
Remodelação da íntima	<ul style="list-style-type: none"> • Síntese e secreção de collagenase e elastase • Síntese e secreção de fatores de crescimento para as células musculares e endoteliais • Síntese e secreção de fatores quimiotáticos • Síntese e secreção de fatores da angiogénese
Resposta inflamatória e imune	<ul style="list-style-type: none"> • Fagocitose e citólise de bactérias e células tumorais • Ativação da resposta imune: função regulatória para células T, células B e células <i>Natural Killer</i>; ligação e apresentação de antigénios; produção de fatores de crescimento e citocinas.
Limpeza	<ul style="list-style-type: none"> • Metabolismo lipídico (<i>uptake</i> de lipoproteínas, secreção de apoproteína E e secreção de lipase) • Fagocitose de células mortas • Fibrinólise e remoção de trombos e deposição de proteínas plasmáticas

A *matriz extracelular* é a principal componente da íntima arterial normal, representando mais de 60% do volume da íntima. Uma vez que a íntima pode ser composta por quantidade variável de músculo liso, enquanto que o número de células endoteliais

permanece igual, a matriz extracelular pode consistir em diferentes proporções de produtos segregados pelos dois tipos de células. ⁽³¹⁾

- Mecanismo de Aterogênese:

As lesões iniciais de aterosclerose desenvolvem-se no endotélio disfuncional, particularmente nas regiões suscetíveis à aterosclerose, onde, como já foi explicado, existe um espessamento da íntima. No entanto, a resposta imune e inflamatória desempenham um papel importante no início da aterogênese. ⁽³⁾

A *disfunção endotelial* inicia-se com alterações não adaptativas na estrutura e função endotelial como: comprometimento da permeabilidade a lipoproteínas do plasma, hiperatividade para leucócitos e desequilíbrio entre fatores antitrombóticos e pró-trombóticos, estimuladores e inibidores de crescimento e substâncias vasoativas. ^(3,17)

A *disfunção endotelial* tem importância não só no início da aterosclerose, mas também na progressão e nas complicações clínicas da doença. ^(3,17)

A classificação da Associação Americana do Coração distingue as lesões ateroscleróticas de acordo com uma classificação histológica que vai das lesões iniciais (tipo I) até às lesões complicadas (tipo VI) (Figura 1.4). ⁽³²⁾

Início da Lesão

A aterosclerose é uma patologia causada não apenas por um único fator etiológico mas resultante de um processo multifatorial, cuja exata patogênese ainda não é completamente conhecida. ^(3,17,19,33)

Há várias teorias que tentam explicar o início das lesões ateroscleróticas nos vasos sanguíneos. ^(19,33)

Uma das teorias relaciona o início das lesões com a acumulação de lipoproteínas derivadas do plasma. O tamanho e complexidade das lesões progridem, à medida que a acumulação de lipoproteínas continua e aumenta. Estudos imuno-histoquímicos demonstram que a apolipoproteína A (Apo A) e a apolipoproteína B (Apo B) estão aumentadas nas regiões arteriais com espessamento da íntima antes do aparecimento dos macrófagos. À medida que a espessura cresce, a Apo A extracelular e Apo B espalham-se a partir da parte superior para a parte inferior da íntima. As lipoproteínas podem ficar retidas na íntima pelos componentes da matriz e, em seguida, serem

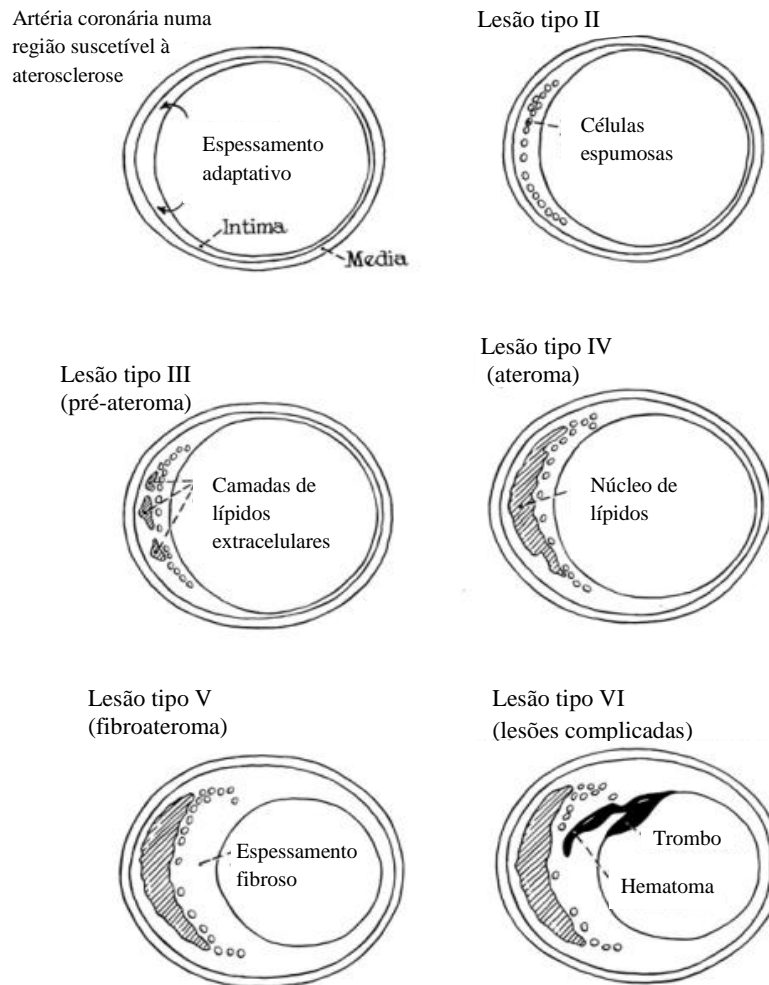


Figura 1.4 - Classificação histológica das lesões ateroscleróticas.
(Adaptado de *American Heart Association, 1995*)

modificadas. Estas lipoproteínas modificadas podem ser internalizadas pelos macrófagos. Os lipídios captados são geralmente hidrolisados e re-esterificados para armazenamento. Os macrófagos fazem parte da íntima de humanos não doentes.^(31,33) No entanto, estudos em animais indicam que mais monócitos entram em circulação em condições de hipercolesterolemia. Este movimento pode ser uma resposta à presença de lipoproteínas oxidadas.⁽³³⁾

Outra hipótese para explicar o início da lesão, a *hipótese da resposta à lesão*, defende que a migração das células musculares da camada média para a íntima e a sua proliferação constituem os eventos causadores da aterosclerose e da acumulação das células musculares na íntima.^(19,33) A lesão celular, em particular, a lesão resultante da erosão das células endoteliais tem sido proposta como um fator que precipita o

espessamento da íntima e a ausência de células endoteliais em pequenas lesões. De acordo com uma versão atualizada desta teoria, as células endoteliais podem ser lesionadas ou ativadas e permanecer no local. Estas células, por sua vez, podem ser estimuladas para exprimir moléculas de adesão de leucócitos e segregar citocinas (quimiotáticas para leucócitos e células musculares), bem como fatores de crescimento para todos os tipos de células sob ou dentro do vaso sanguíneo. ⁽³³⁾ Até agora, esta tem sido a hipótese mais amplamente aceita e incorpora aspectos de duas teorias que historicamente explicavam a aterosclerose: a teoria lipídica de Virchow e a teoria trombogénica (encrustação) de Rokitansky. ⁽¹⁹⁾ A Figura 1.5 mostra a progressão da lesão aterosclerótica segundo esta teoria – Hipótese da resposta à lesão.

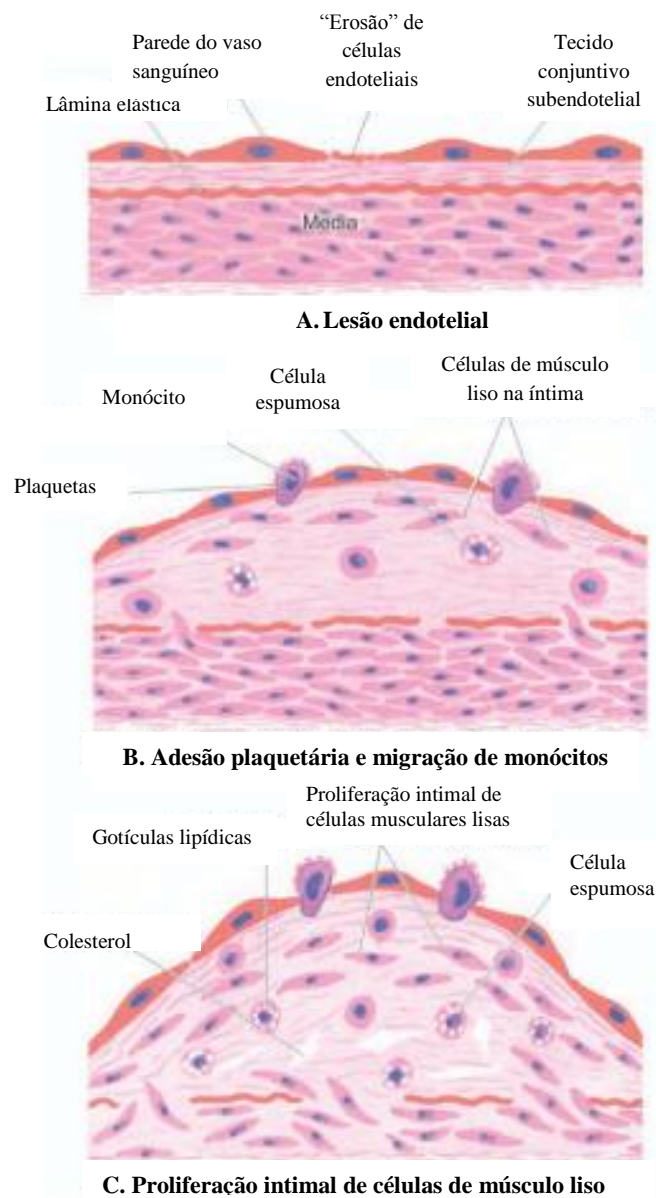


Figura 1.5 - Representação da patogénese da aterosclerose de acordo com a hipótese de "reação à lesão". A representa a lesão endotelial; B a adesão de plaquetas e migração de monócitos da corrente sanguínea e em C a proliferação de células do músculo liso na íntima. (Adaptado de *Mohan, 2010*)

De acordo com outra hipótese, plaquetas e/ou depósitos de fibrina na íntima podem constituir o evento inicial na aterogênese. Existe evidência de incrustações trombóticas frequentes em lesões da íntima com acumulações avançadas de lípidos que, ao serem incorporadas na parede, contribuem para o estreitamento arterial e são a base de episódios isquêmicos. ⁽³³⁾

Outra teoria afirma que a lesão aterosclerótica inicial é um espessamento da íntima com aparência macroscópica gelatinosa. Microscopicamente, estes espessamentos gelatinosos contêm poucas células, poucos ou nenhuns lípidos e uma matriz intercelular abundante com pouco colagénio ou elastina, sendo que o significado destas estruturas ainda não é conhecido. ⁽³³⁾

As lesões do *tipo I*, ou lesões iniciais, consistem nos primeiros depósitos de lípidos na íntima detetados quimicamente e microscopicamente e nas reações celulares relacionadas com estes depósitos. Este tipo de lesão tem sido descrito com maior frequência em crianças, embora também possa estar presente em adultos. São poucas as alterações histológicas iniciais na íntima: pequenos grupos isolados de macrófagos contendo gotículas de lípidos. Nas artérias coronárias, estas células acumulam-se, preferencialmente, em regiões de íntima com espessamento adaptativo do tipo focal. ⁽³³⁾

As lesões *tipo II* incluem estrias gordurosas (*fatty streaks*) na superfície da íntima arterial. Ao microscópio estas lesões são mais bem definidas do que as lesões *tipo I*, consistindo principalmente em células espumosas, derivadas de macrófagos (*foam cells*) em camadas adjacentes em vez de estarem presentes apenas em grupos isolados de algumas células. ^(3,19,33) O complexo hemodinâmico nas áreas suscetíveis à lesão pode aumentar a passagem local trans-endotelial de lipoproteínas e promover a sua retenção e modificação (oxidação) no espaço subendotelial. As lipoproteínas oxidadas (oxLDL) têm várias propriedades pró-inflamatórias as quais podem explicar o aumento das moléculas de adesão celular. As oxLDL são também citotóxicas e facilmente reconhecidas pelos recetores de “limpeza” dos macrófagos promovendo a acumulação lipídica intracelular e a formação de células espumosas. ⁽³⁾ (Figura 1.6)

2013/2014

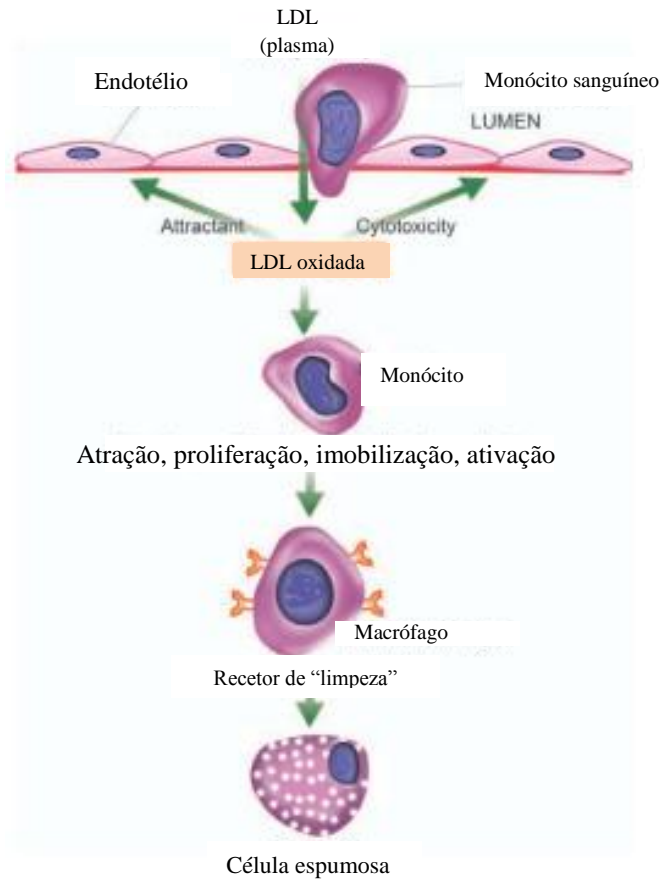


Figura 1.6 - Mecanismo de formação de uma célula espumosa. LDL: lipoproteína de baixa densidade (Adaptado de *Mohan, 2010*)

As células musculares lisas da íntima também contêm depósitos lipídicos. Os lípidos das lesões do *tipo II* são compostos por ésteres de colesterol (77%), colesterol e fosfolípidos. Das muitas lesões do *tipo II*, presentes nos indivíduos que têm níveis médios de lipoproteínas aterogênicas, um grupo pequeno irá desenvolver-se e avançar para lesões *tipo III* e em seguida para lesões mais complicadas. Este pequeno grupo de lesões de *tipo II*, que se localiza em espessamentos adaptativos da íntima em locais previsíveis, designa-se de *lesões suscetíveis de progressão* ou *lesões tipo IIa*. O outro grupo de lesões *tipo II* é chamado de *progressão resistente* ou *tipo IIb*. Estas lesões podem não progredir, progredir lentamente ou progredir apenas em indivíduos com níveis muito elevados de lipoproteínas aterogênicas. As forças mecânicas locais em que as lesões do *tipo II* são suscetíveis de evoluir para lesões mais avançadas, causam um aumento do influxo e acumulação de lípidos em indivíduos cujas lipoproteínas plasmáticas ultrapassam determinados limites. Estas forças mecânicas podem ser, por exemplo, a baixa tensão de cisalhamento que proporciona mais tempo de interação das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) com a parede arterial.^(17,33) Morfologicamente, as lesões do *tipo IIa* diferem das *IIb* pela presença de células de músculo liso, matriz

intercelular abundante no espessamento adaptativo, maior acumulação de lipoproteínas e células espumosas e a localização profunda na íntima arterial das células espumosas e gotículas lipídicas. Em indivíduos com níveis muito elevados de lipoproteínas aterogénicas (como no caso dos hipercolesterolémicos homozigóticos), as lesões ateroscleróticas *tipo II* rapidamente se desenvolvem em lesões mais avançadas mesmo em locais arteriais fora das regiões propensas a progredir, o que também ocorre em indivíduos a partir da meia-idade.⁽³³⁾

A designação de lesão *tipo III* aplica-se unicamente às lesões que se formam morfológica e quimicamente entre as lesões *tipo II* e os ateromas. Também é conhecida como lesão intermédia, lesão de transição e pré-ateroma.⁽³³⁾

As primeiras lesões consideradas já avançadas são as lesões do *tipo IV*, onde ocorre uma densa acumulação extracelular de lípidos, que ocupa uma extensa e bem definida região da íntima. Esta acumulação lipídica constitui o denominado núcleo de lípidos. A esta lesão já podemos chamar *ateroma*.⁽³²⁾ As células musculares na íntima e a matriz intercelular estão dispersas e são substituídas por partículas extracelulares lipídicas, sendo que, os organelos de algumas células do músculo liso, podem ser calcificados. Frequentemente, encontram-se na periferia da lesão, macrófagos, células espumosas e linfócitos. Grande parte do tecido, entre o núcleo lipídico do endotélio, corresponde à camada rica em proteoglicanos da íntima, embora infiltrada com as células descritas acima.⁽³²⁾

As lesões classificam-se como lesões do *tipo V* quando se forma tecido conjuntivo proeminente. Quando o novo tecido é parte de uma lesão com um núcleo lipídico, este tipo de morfologia pode chamar-se de *fibroateroma* ou lesão do *tipo Va*. Uma lesão do *tipo V*, em que o núcleo lipídico e outras partes da lesão são calcificados, pode chamar-se de *tipo Vb*. Também pode haver lesões do *tipo V* em que o núcleo lipídico está ausente e o caráter lipídico em geral é mínimo. Neste caso, estamos a falar de lesões *tipo Vc* e o estreitamento arterial é maior do que nas lesões *tipo IV*.⁽³²⁾

As lesões *tipo VI* ou lesões *complicadas* também podem ser subdivididas de acordo com as características das lesões: quando se trata de lesões em que se verifica a rutura da superfície, designam-se lesões *tipo VIa*; quando existe um hematoma ou hemorragia, a

lesão denomina-se *Vib*; se ocorrer um fenómeno de trombose, trata-se de uma lesão *tipo VIc*. Podem também coexistir as três características – lesão *tipo VIabc*.⁽³²⁾

A tabela que se segue resume as características histológicas, a patogénese e a apresentação clínica dos vários tipos de lesão aterosclerótica, aqui mencionados.

Tabela 1.4 - Classificação dos tipos de lesões ateroscleróticas e respetivas características histológicas, patogénese, idade de início e clínica. (Adaptado de *American Heart Association, 1995*)

Tipo de Lesão	Histologia	Patogénese	Idade de início	Clínica
Tipo I	Macrófagos, ocasionalmente células espumosas	Acumulação de lipoproteínas	Primeira década	Assintomática
Tipo II	Muitas camadas de macrófagos e células espumosas	Acumulação de lipoproteínas	Primeira década	Assintomática
Tipo III	Muitas células carregadas de lípidos e gotículas lipídicas extracelulares espalhadas	Acumulação de lipoproteínas	Terceira década	Assintomática
Tipo IV	Camadas lipídicas intra e extracelulares	Acumulação de lipoproteínas	Quarta década	Assintomática ou com sintomas
Tipo V	Revestimento fibrótico e núcleo lipídico ou calcificado (<i>Vb</i>)	Proliferação de células musculares e aumento de colagénio	Quarta década	Assintomática ou com sintomas
Tipo VI	Ulceração, hemorragia, hematoma, trombose	Stress hemodinâmico, trombose, hematoma	Quarta década	Assintomática ou com sintomas

O termo “placas complicadas” usa-se para descrever lesões avançadas complicadas por trombose luminal e/ou hemorragia da placa.⁽³⁾ A rutura das placas vulneráveis é frequente, pois estão mais predispostas à desestabilização, com a consequente trombose. Estas placas, cuja superfície é rompida com mais facilidade, têm uma cápsula fibrosa mais fina e um núcleo lipídico volumoso, e contêm uma elevada proporção de células (nomeadamente macrófagos) e mediadores inflamatórios.^(3,17,21,22) Pelo contrário, as placas com menor conteúdo lipídico, cápsulas fibrosas mais espessas e com menos atividade inflamatória, são mais estáveis e menos predispostas à rutura.^(3,17,21,22)

A rutura da placa por si só é assintomática. No entanto, a hemorragia relacionada com a rutura dentro da placa – trombose luminal – e/ou vasoespasmo, pode causar obstrução repentina do fluxo, dando origem a SCA. A lesão é frequentemente dinâmica, causando

obstrução intermitente do fluxo e a apresentação clínica e o *outcome* dependem da severidade e duração da isquemia do miocárdio. ⁽³⁾

Um trombo não oclusivo ou transitório está mais frequentemente associado a AI/EMSSDST, enquanto um trombo oclusivo mais estável é mais frequente em EMCSDST. ^(3,21) (Figura 1.7)

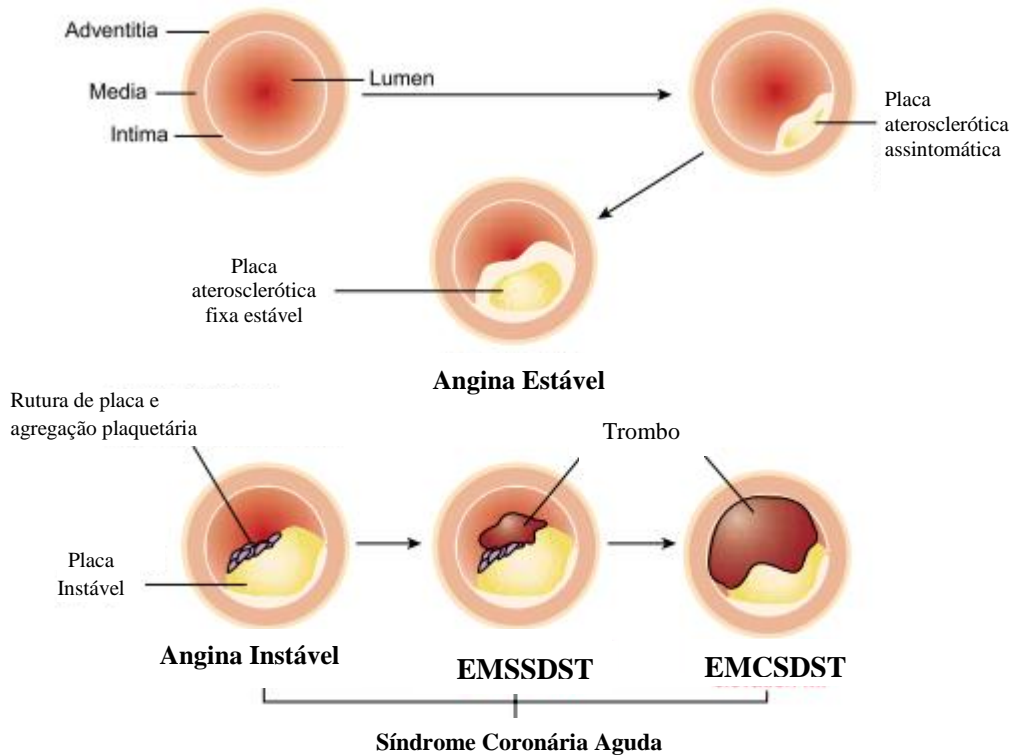


Figura 1.7 - Relação entre o nível de evolução da placa aterosclerótica e o tipo de cardiopatia isquêmica a que dão origem. EMSSDST: Enfarte do miocárdio sem supradesnívelamento do segmento ST; EMCSDST: Enfarte do miocárdio com supradesnívelamento do segmento ST. (Adaptado de Porth C.M., 2010)

1.5 Fatores de Risco

Um fator de risco corresponde a uma característica biológica ou comportamental presente num indivíduo saudável, que está relacionado de forma independente com o desenvolvimento posterior de uma doença, ou seja, aumenta a probabilidade de aparecimento de determinada doença. ⁽³⁴⁾

É comum dividir os fatores de risco para a doença isquêmica em dois grupos principais: *modificáveis* e *não modificáveis*, sendo que, em algumas publicações, também surge um outro grupo designado de *fatores de risco emergentes*. ^(17,19,21) No entanto, há também

autores que usam a designação de fatores de risco *major* (fatores causais) onde se verifica uma relação causa-efeito entre a sua presença e o desenvolvimento mais acelerado e, nalguns casos, precoce de doença aterosclerótica, fatores de risco contributivos e predisponentes (não causais). No entanto, esta última classificação é mais controversa, pelo que nesta dissertação, os fatores de risco serão agrupados em fatores de risco não modificáveis, modificáveis e emergentes.

1.5.1 Fatores de Risco Não Modificáveis

Género

Os principais fatores de risco para as doenças cardiovasculares são similares para ambos os géneros, mas os homens desenvolvem doença coronária dez a quinze anos mais cedo do que as mulheres. ^(1,3,19,21,35) Após os 60 anos, no entanto, a doença coronária torna-se a primeira causa de morte entre as mulheres, bem como nos homens. ⁽³⁾

Os estrogénios podem ser o fator mais óbvio responsável pela proteção contra a doença coronária durante o período fértil. Com a menopausa, os níveis de LDL (lipoproteína de baixa densidade) começam a subir, enquanto os níveis de HDL (lipoproteína de baixa densidade) param de subir ou eventualmente começam a descer, o que conduz a um desequilíbrio da razão LDL/HDL. ⁽³⁾

A terapia de substituição hormonal pode restabelecer o perfil lipídico deteriorado. Os estrogénios também têm efeito ateroprotetor na parede vascular (existem recetores de estrogénios nas células vasculares), o que é sugerido pela melhoria da função endotelial que se observa com a administração de estrogénios. ⁽³⁾

Relativamente às lesões coronárias, pela avaliação microscópica, estas parecem progredir mais rapidamente em homens do que em mulheres. No que diz respeito à progressão da placa, o mecanismo mediado por trombos, parece ser dependente do género: a erosão da placa (*versus* rutura da placa) é mais frequente em mulheres do que em homens. ⁽³⁾

Deficiência em estrogénios

Tal como já foi referido, a doença coronária é mais frequente em homens do que em mulheres e o aparecimento tende a ser mais prematuro em homens. No entanto, a incidência de doença coronária em mulheres aumenta rapidamente após a menopausa e

é semelhante à que se observa em homens na população com idade superior a 65 anos.^(3,17)

Os efeitos das hormonas sexuais e do género no metabolismo lipoproteico mostram que os estrogénios e o género feminino comprometem o tráfico metabólico do transporte do colesterol em quase todas as vias metabólicas, causando o aumento dos triglicéridos, diminuição das LDL e aumento das HDL e favorecendo a reciclagem das LDL transformando-se em HDL. Por outro lado, progestagénios e androgénios e o género masculino têm o efeito oposto.⁽²⁾ Desta forma, as hormonas sexuais femininas contribuem para o menor risco de doença aterosclerótica em mulheres pré-menopáusicas.^(2,17)

Para além dos efeitos nas lipoproteínas, os estrogénios têm numerosos efeitos diretos na parede arterial: diminuição da penetração das LDL, diminuição da resposta inflamatória, envolvendo a diminuição libertação de citocinas e diminuição da formação de moléculas da resposta inflamatória no endotélio. Alguns destes efeitos estão relacionados com o efeito anti-oxidante dos estrogénios.⁽²⁾

Recetores de estrogénios encontram-se diminuídos, ou até mesmo ausentes, em áreas onde existem lesões ateroscleróticas.⁽²⁾

Outra forma pela qual as hormonas sexuais afetam a parede arterial é através do sistema parede-prostaglandina, que pode promover a vasoconstrição e agregação plaquetária, se a formação do tromboxano for dominante ou provocar a vasodilatação e diminuir a agregação plaquetária, caso a prostaciclina seja dominante. Os estrogénios favorecem a dominância da prostaciclina, enquanto a testosterona o tromboxano.⁽²⁾

Após a menopausa, as mulheres apresentam níveis mais elevados de LDL, quando comparadas com mulheres em idade fértil, em parte devido à falta de estrogénios endógenos. Também a insulina, a glucose e o peso corporal aumentam devido ao efeito dos estrogénios.⁽²⁾

Idade

A idade é um potente fator de risco para a doença coronária.^(1,3,17,19) O desenvolvimento de aterosclerose aumenta marcadamente com a idade a partir dos 65 anos, devido ao processo degenerativo associado ao próprio envelhecimento, juntamente com o agravamento do perfil de fator de risco que se desenvolve com o aumento da idade, independentemente do género e da etnia.^(3,17)

Embora a idade seja um forte e independente fator de risco para a doença coronária, a contribuição independente da idade para estas doenças é dependente do colesterol: em populações cuja média de colesterol total seja menor que 4 mmol/L (150 mg/dL), os eventos ateroscleróticos são raros, mesmo em idosos.⁽³⁾

Fatores Genéticos e História Familiar

A aterosclerose é uma doença complexa, na medida em que é o resultado de múltiplas e complexas interações entre o estilo de vida, o ambiente e os efeitos das variações da sequência genética de um certo número de genes.^(3,17) Muito raramente, os fatores genéticos causam por si só aterosclerose sintomática (deficiência do recetor LDL em indivíduos homozigóticos).⁽³⁾

Frequentemente, o património genético determina a resposta individual aos fatores pro-aterogénicos e a suscetibilidade do vaso aos estímulos aterogénicos, embora sejam os fatores ambientais que influenciam marcadamente a progressão da doença (desenvolvimento da placa) e, assim, determinam o desenvolvimento de doença coronária.⁽³⁾ Variações nos genes podem alterar a função dos constituintes (enzimas, recetores e ligandos) nas vias metabólicas, resultando em diferentes suscetibilidades para o desenvolvimento e progressão da aterosclerose.⁽³⁵⁾

A história familiar é considerada significativa, quando a doença aterosclerótica surge num familiar masculino em primeiro grau com menos de 55 anos, ou feminino com menos de 65 anos.^(17,35)

Origem étnica

Há uma predisposição étnica para a doença coronária e também para o AVC.^(1,17,35)

Nos EUA foi extensivamente estudada a influência da etnia no risco cardiovascular, onde os afro-americanos têm duas vezes mais risco de morte por eventos cardiovasculares comparando com indivíduos caucasianos.⁽¹⁾

A mortalidade padronizada para a idade por doença cardiovascular situa-se em cerca de 50% mais elevada em indivíduos de origem étnica do sul da Ásia a viver no Reino Unido, do que em indivíduos de raça branca.^(1,17) Embora um aumento de prevalência dos fatores de risco explique grande parte deste risco (triglicéridos elevados, HDL

baixa, insulinoresistência e redução da atividade física), os fatores genéticos são considerados como contribuintes significativos.⁽¹⁷⁾

1.5.2 Fatores de Risco Modificáveis

Dislipidemias

Virchow, no século XIX, foi o primeiro a identificar cristais de colesterol nas lesões ateroscleróticas. Desde aí, tem sido recolhida informação extensiva acerca das lipoproteínas e o seu papel no aparecimento de lesões ateroscleróticas.^(19,22)

De facto, anomalias nas lipoproteínas plasmáticas, nomeadamente o colesterol total elevado (particularmente o colesterol LDL) ao mesmo tempo que níveis de HDL baixos, têm sido apontadas como o mais importante fator de risco para a aterosclerose e para a doença coronária.^(3,17,19)

Estudos angiográficos, observações epidemiológicas, bem como testes experimentais confirmam a importância do colesterol LDL como causa para aterosclerose. Existe uma relação fortemente positiva entre os níveis de colesterol séricos e a doença coronária no Mundo: quanto mais baixo o colesterol, mais baixo o risco de doença coronária.⁽³⁾

Há evidências de que a hipercolesterolemia tem relação diretamente proporcional com a aterosclerose e a cardiopatia isquémica⁽¹⁹⁾:

- i. As placas ateroscleróticas contêm colesterol e ésteres de colesterol derivados das lipoproteínas do sangue;
- ii. As lesões de aterosclerose podem ser induzidas em animais através de uma dieta rica em colesterol;
- iii. Indivíduos com hipercolesterolemia têm um risco acrescido de desenvolver aterosclerose e cardiopatia isquémica;
- iv. Verifica-se uma maior mortalidade por cardiopatia isquémica, em populações com hipercolesterolemia.

Está descrito em estudos experimentais e em humanos que, são necessários determinados níveis séricos de colesterol (4 mmol/L; 150 mg/dL), para que se inicie o desenvolvimento da aterosclerose. Abaixo deste nível, a doença coronária é rara.⁽³⁾

Relativamente aos níveis de HDL, estes podem ter um valor preditivo potente se os níveis de colesterol total estiverem elevados. Baixos níveis de HDL assemelham-se a outros fatores de risco importantes, tais como, tabaco, hipertensão arterial (HTA) e diabetes que promovem aterosclerose coronária quando há níveis elevados de colesterol LDL. A aterosclerose é devida ao influxo, retenção e modificação de lipoproteínas na íntima, incluindo as LDL, lipoproteínas de densidade intermédia (IDL) e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). O grau, pelo qual cada lipoproteína causa aterosclerose, depende do seu tamanho, o que explica que as VLDL e quilomicrons demasiado grandes não entram na parede arterial, logo não são aterogénicos. As HDL entram facilmente na parede arterial, mas também a deixam sem dificuldade, logo não causam aterosclerose.⁽³⁾ De facto, mais do que isso, as HDL proporcionam, provavelmente, um efeito protetor, na medida em que facilitam a remoção do colesterol do vaso sanguíneo.^(3,17,19)

Consumo Tabágico

O tabaco é um fator de risco modificável para eventos cardíacos relacionados com a aterosclerose que, em conjunto com outros fatores de risco, atua sinergicamente aumentando substancialmente o risco de doença coronária.^(3,36) A extensão e severidade da aterosclerose são muito maiores em indivíduos fumadores do que em indivíduos não fumadores. Este aumento do risco e severidade da aterosclerose nos fumadores é devido à redução do HDL, desequilíbrio do sistema de coagulação e acumulação de monóxido de carbono no sangue, o que produz carboxi-hemoglobina e, eventualmente, hipoxia na parede arterial, o que pode favorecer a aterosclerose.^(1,19)

No entanto, indivíduos fumadores têm maior risco de sofrer de EM, mas não de angina *pectoris*. Isto pode significar que o tabaco não causa aterosclerose coronária *per si* mas aumenta o risco de efeitos trombóticos quando já se atingiu um certo nível de aterosclerose coronária: trombos coronários são mais frequentes em fumadores do que em não fumadores.⁽³⁾ Existe também um forte sinergismo entre hipercolesterolemia e tabaco na génese do EM: a hipercolesterolemia promove a aterosclerose e o tabaco precipita o EM. Há algumas evidências de que o tabaco pode ser mais trombogénico do que aterogénico:

- i. É um fator de risco forte para eventos mediados por trombos, mas não para sintomas causados apenas pela aterosclerose (ex: angina *pectoris*);⁽³⁾

- ii. Angiograficamente está mais associado com a rápida oclusão coronária (trombose) do que com a progressão lenta da placa aterosclerótica. ⁽³⁾
- iii. Depois da trombólise, em fumadores, persiste menos doença vascular residual;
- iv. Associado a estado sistémico hipertrombótico (geração de trombina), ativação plaquetária e aumento do fibrinogénio; ^(1,3,32)
- v. Patoanatomicamente, está associado com trombose coronária e apenas fracamente com aterosclerose; ⁽³⁾
- vi. A cessação tabágica reduz rápida e marcadamente o risco de EM. ^(3,17)

Hipertensão arterial (HTA)

A HTA é um dos principais fatores de risco independentes para a doença coronária, embora apareça patogenicamente como acelerador da aterosclerose dependente do colesterol. ^(3,37,38)

Estima-se que o aumento de pressão arterial cause por volta de 7 milhões de mortes prematuras no Mundo, sendo um fator de risco para doenças cerebrovasculares, doença coronária e insuficiência renal. ^(2,38)

O tratamento da hipertensão está associado a uma redução de 35-40% do risco de AVC e 16% de redução de EM. Vários estudos, em doentes com elevado risco cardiovascular, mostram que houve uma redução de morbilidade e mortalidade cardiovascular em pessoas cuja pressão sanguínea foi reduzida para níveis inferiores a 160/90mmHg. ⁽³⁸⁾

Indivíduos com pressão arterial superior a 140/90 mmHg (Tabela 1.5) ⁽³⁹⁾ têm um risco relativo de 1,5 (*Seven Countries Study*) a 2,0 (*Fremingham Study*) de morrer de doença coronária. ^(3,37)

Tabela 1.5 - Classificação da Pressão Arterial. PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica. (Adaptado de *British Hypertension Society, 2004*)

Categoria	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
PA ótima	<120	<80
PA normal	<130	<85
PA normal alta	130-139	85-89
Hipertensão de grau 1	140-159	90-99
Hipertensão de grau 2	160-179	100-109
Hipertensão de grau 3	≥180	≥110

É consensual que a HTA acelera a aterosclerose de uma forma diretamente proporcional ao aumento da pressão. ^(3,17) A HTA e a hipercolesterolemia interagem fortemente na progressão da aterosclerose coronária. ^(3,17) Em estudos com animais de laboratório com

baixos níveis de colesterol e HTA não induzem aterosclerose. Portanto, a HTA não é por si só aterogênica. ⁽³⁾ No entanto, a hipertensão está associada a doença coronária através de vários mecanismos fisiopatológicos: induz a disfunção endotelial, exacerba o processo de aterosclerose e contribui para que a placa aterosclerótica se torne mais vulnerável/instável. A hipertrofia ventricular esquerda é uma das complicações frequentes da HTA, promove a diminuição da reserva coronária e o aumento das necessidades de oxigênio no miocárdio, contribuindo, assim, para a isquemia. ⁽³⁸⁾

Diabetes Mellitus

Devido ao envelhecimento da população, do aumento da prevalência da obesidade e do sedentarismo nos EUA, a prevalência da diabetes está a aumentar. ⁽⁴⁰⁾ Entre as causas metabólicas da diabetes tipo 2 está a combinação da resistência à insulina e a secreção defeituosa de insulina pelas células pancreáticas. A resistência à insulina desenvolve-se devido a obesidade e inatividade física, atuando num substrato de suscetibilidade genética e também aumenta com a idade. A resistência à insulina é, geralmente, acompanhada de outros fatores de risco cardiovasculares: dislipidemias, hipertensão e fatores pro-trombóticos. O conjunto destes fatores de risco num único indivíduo chama-se *síndrome metabólica*. ^(17,40)

A diabetes é um fator de risco dependente do género, que aumenta três a sete vezes o risco de doença coronária, nas mulheres e duas a três vezes nos homens. ⁽³⁾ A diabetes atua como fator de risco independente para muitas formas de DCV. ⁽⁴⁰⁾ Quando doentes diabéticos sofrem de DCV, têm um pior prognóstico do que aqueles que não são diabéticos. No entanto, os mecanismos pelos quais a diabetes promove aterosclerose, ainda são pouco conhecidos, embora se saiba que dislipidemia diabética envolve níveis elevados de VLDL, LDL e baixos níveis de HDL, bem como níveis elevados de Apo B. ^(17,19,22,40) Doentes diabéticos manifestam várias alterações da coagulação que predis põem a trombose arterial. Estas alterações incluem aumento da atividade plaquetária e aumento dos níveis plasmáticos de fibrinogénio e dos níveis de inibidor do ativador de plasminogénio (PAI-1). ^(17,19,40) Para além das alterações de coagulação e da dislipidemia diabética, o aumento do *stress* oxidativo e o aumento dos níveis de produtos finais prejudiciais da glicação avançada, também contribuem para o aumento do risco cardiovascular. ^(17,22)

É interessante notar que, a isquemia do miocárdio, devido a aterosclerose coronária, ocorre frequentemente sem sintomas, em doentes diabéticos.^(3,17,40)

Obesidade

Durante as últimas décadas, a prevalência da obesidade tem aumentado em proporções epidémicas.⁽²⁾ A prevalência da obesidade entre os adultos, nos EUA, aumentou de 12% em 1991 para 21,3% em 2002 e está em rápido aumento, não só nos EUA, mas também em todos os países industrializados.^(2,17) Por exemplo, no Reino Unido, a obesidade no adulto aumentou em mais de 50%, em menos de 10 anos.⁽¹⁷⁾ O Instituto Nacional de Saúde, nos EUA, classificou o peso corporal de acordo com o Índice de Massa Corporal (IMC) (Tabela 1.6).

Tabela 1.6 - Classificação do peso corporal tendo em conta o IMC. (Adaptado de *Topol, 2007*)

Categoria	IMC (Kg/m ²)
Peso Normal	≤ 25,0
Excesso de peso	25,1 - 29,9
Obesidade classe I	30,0 - 34,9
Obesidade classe II	35,0 - 39,9
Obesidade classe III	≥ 40,0

Em 2002, 58% dos americanos adultos tinham excesso de peso. A prevalência de obesidade classe III passou de 0,9%, em 1991, para 2,4%, em 2002.⁽²⁾ Para além do cálculo do IMC, medir o perímetro abdominal também é importante, uma vez que também está associado ao aumento do risco metabólico quando é superior a 102 cm nos homens e superior a 88 cm no caso das mulheres.^(2,17) As alterações metabólicas associadas à obesidade central incluem triglicéridos elevados, baixo nível de HDL, HTA, inflamação sistémica de baixo grau, insulinoresistência e DM tipo 2.⁽¹⁷⁾ Por estas razões, as doenças cardiovasculares são a principal co-morbilidade da obesidade.^(2,17)

Álcool

A ingestão moderada de álcool está fortemente e consistentemente associada a níveis mais elevados de colesterol HDL e Apo A 1 e níveis mais baixos de fibrinogénio. O álcool também inibe a agregação plaquetária, o que pode contribuir para a redução do risco coronário e pode, também, promover a fibrinólise.⁽³⁾ Estudos epidemiológicos são consistentes a mostrar que o consumo leve a moderado de álcool está associado com a

redução de morbidade e mortalidade por doença coronária. ⁽²⁾ Por outro lado, uma ingestão mais abundante de álcool (mais de quatro copos por dia) está associada a HTA, arritmias e cardiomiopatia, contribuindo para o desenvolvimento de DCV. ^(2,3)

Inatividade Física

A inatividade física é um fator de risco para o desenvolvimento de doença cardiovascular. A prática de exercício físico regular está associada a incidência mais baixa de sintomas cardiovasculares e redução de mortalidade cardiovascular, em pessoas assintomáticas e doentes com DCV já estabelecida. ^(2,17)

Os mecanismos específicos através dos quais o exercício reduz a DCV e a mortalidade por DVC, ainda não estão completamente esclarecidos, mas sabe-se que é multifatorial: a atividade física baixa a pressão sanguínea, melhora a tolerância à glucose, reduz a obesidade, melhora o perfil lipídico, reduz a inflamação e melhora a função endotelial. ^(2,17)

Stress psicológico

O impacto do risco atribuível ao *stress* psicológico é dos mais difíceis de quantificar. O aumento do *stress* no trabalho, na família, falta de suporte social, estados ansiosos e a depressão estão associados, de forma consistente, ao aumento do risco de aterosclerose. ⁽¹⁷⁾

A resposta individual ao *stress* depende de uma multiplicidade de interações entre fatores genéticos e ambientais em que, uma resposta inadequada, exagerada ou sustentada no tempo, pode levar ao aparecimento de doenças, nomeadamente cardiovasculares. ⁽⁴¹⁾

1.5.3 Fatores de Risco Emergentes

Inflamação/Infeção

A inflamação desempenha um papel importante no início e progressão da aterosclerose. ^(2,17,21) Desta forma, marcadores sanguíneos sistémicos de inflamação, tais como, como a Proteína C reativa (CRP), proteína amilóide A e fibrinogénio, têm emergido como potentes preditores de eventos coronários em doentes assintomáticos de angina instável e após episódio de enfarte. ^(3,17)

A hipótese de que a infecção pode estar relacionada com a aterosclerose é plausível, mas ainda não está provada. É extremamente difícil, senão impossível, cultivar agentes infecciosos em lesões ateroscleróticas, mas não exclui o seu envolvimento na formação das lesões. O ADN genómico do Citomegalovirus (CMV) e outros antígenos de microorganismos infecciosos têm sido frequentemente encontrados no sistema arterial humano, tanto em vasos com placa como sem placa.⁽³⁾

Mais de vinte moléculas de adesão celular associadas à inflamação, e quase cinquenta citocinas pró-inflamatórias têm sido descritas e um número significativo destas têm mostrado estarem presentes em placas ateroscleróticas.⁽³⁾

Fatores Hemostáticos

Muitos fatores hemostáticos, tais como fator VII, PAI-1, ativador tecidual do plasminogénio (t-PA) e as plaquetas têm sido identificados como determinantes de futuros eventos coronários. A geração de trombina e ativação plaquetária desempenham um papel causal na trombose luminal mediada por aterosclerose, mas também na progressão lenta das lesões ateroscleróticas. As plaquetas podem aderir a áreas onde ocorreu erosão das células endoteliais e libertar os seus grânulos que contêm citocinas e fatores de crescimento que, juntos com a trombina, podem contribuir para ativação, migração e proliferação de células e conseqüente desenvolvimento da placa.⁽³⁾

O mais potente e consistente preditor de doença coronária entre os fatores hemostáticos, é o fibrinogénio – fortemente relacionado com tabaco - diabetes e proteína C reativa, sendo que todos representam fortes, consistentes e independentes preditores de doença coronária.⁽³⁾

O fibrinogénio é uma glicoproteína sintetizada pelo fígado e composta por duas subunidades ligadas entre si por ponte dissulfeto. Os níveis de fibrinogénio na circulação mantêm-se entre os 200-400 mg/dL. Verificam-se níveis mais elevados em afro-americanos, idosos, em mulheres depois da menopausa e com o aumento da gordura corporal. Por outro lado, verifica-se uma diminuição do fibrinogénio, com o exercício e o consumo de álcool.⁽²⁾

Os níveis de fibrinogénio estão correlacionados positivamente com outros fatores de risco para as DCV, aumentando com a concentração de LDL e lipoproteína (a) e diminuindo com o aumento do HDL. Também se verifica um aumento do fibrinogénio

em indivíduos hipertensos e em doentes com DM, bem como associado ao consumo de tabaco. ⁽²⁾

O fibronogénio relaciona-se com a aterosclerose, na medida em que regula a adesão celular, quimiotaxia, influencia a agregação plaquetária e a viscosidade sanguínea e, em combinação com a trombina, medeia a formação do coágulo sanguíneo. ⁽²⁾

Um estudo (*Atherosclerosis Risk in Communities*) com mais de 1400 indivíduos de meia-idade mostrou que níveis elevados de fibrinogénio estão associados a 1,5 vezes maior de risco de EM. ⁽²⁾

Homocisteína

A homocisteína é um aminoácido formado como produto do metabolismo do aminoácido essencial, metionina. Os valores normais da homocisteína encontram-se entre os 5-15 $\mu\text{mol/L}$. ⁽²⁾

Níveis elevados de homocisteína podem estar associados à idade, à menopausa, ao hipotireoidismo, à deficiência de vitamina B6, B12 e folatos. Também as variações genéticas, nas enzimas envolvidas no metabolismo da homocisteína, contribuem para as diferenças interindividuais nos níveis de homocisteína plasmática. ⁽²⁾

Estudos retrospectivos de caso-controlo identificam valores médios a moderados de homocisteína como um forte e independente fator de risco para doença coronária, AVC e doença vascular periférica. Estudos prospetivos, no entanto, falharam na demonstração desta associação e sugerem que, uma homocisteína elevada pode ser um marcador ou uma consequência, mais do que a causa das DCV. Estudos *in vitro* identificam os efeitos potencialmente pró-aterogénicos da homocisteína, como a toxicidade endotelial e promoção do crescimento de células musculares lisas e produção de colagénio. Estudos *in vivo* demonstram que a hiperhomocistemia está associada a disfunção endotelial, embora não haja evidência experimental em animais que indique que o aumento médio a moderado da homocisteína seja a causa da aterosclerose. ⁽³⁾

Nos humanos, o aumento da homocisteína está associado à disfunção endotelial, provavelmente mediada pelo aumento do *stress* oxidativo. Os efeitos pró-trombóticos da homocisteína relacionam-se com a supressão da trombomodulina, nas células endoteliais. ⁽³⁾

Uma meta análise de 27 estudos indicou que a elevação dos níveis de homocisteína (>15µmol/L) está associada a um aumento do risco de doença arterial coronária, doença arterial periférica, AVC e tromboembolismo venoso. ⁽²⁾

Elevados níveis de Proteína C reativa

A proteína C reativa (CRP) é uma proteína pentamérica de ligação ao cálcio e sintetizada no fígado, em resposta à ativação de várias citocinas como as interleucinas 1 e 6 e fator de necrose tumoral (TNF-α). Uma vez que a *clearance* é constante, o seu nível no soro é determinado apenas pela taxa de produção. ⁽²⁾

Em pessoas saudáveis, na ausência de inflamação ativa, os níveis de CRP estão normalmente abaixo dos 1 mg/L. ⁽²⁾

A concentração de CRP está fisiologicamente aumentada no 3º trimestre de gravidez, bem como em mulheres que tomam contraceptivos orais ou terapia hormonal de substituição (THS). Os níveis de CRP também são maiores em mulheres do que em homens e marcadamente diferente entre etnias: mulheres africanas ou americanas têm níveis maiores de CRP que as caucasianas ou hispânicas, enquanto as mulheres chinesas apresentam os níveis mais baixos. A obesidade tem sido associada a valores mais elevados de CRP. ⁽²⁾

Atualmente, tem sido atribuído à CRP um papel central na inflamação em todas as fases da aterosclerose, desde a lesão inicial até à rutura da placa. ⁽²⁾

A CRP expressa-se na placa de aterosclerose e pode aumentar a expressão local de moléculas de adesão, aumentar a expressão do PAI-1, reduzir a bioatividade do NO endotelial e promover o *uptake* das LDL pelos macrófagos. A CRP tem sido encontrada em ateromas e os depósitos imuno-histoquímicos de CRP nas placas confirmam o conceito de que a inflamação é um componente importante na instabilidade da placa. ⁽²⁾

A função preditiva da CRP para eventos coronários será abordada com maior detalhe no terceiro capítulo desta dissertação.

A tabela que se segue enumera os fatores de risco (modificáveis, não modificáveis e emergentes) para a aterosclerose e a cardiopatia isquémica. (Tabela 1.7)

Tabela 1.7 - Fatores de Risco para o desenvolvimento de aterosclerose e doença coronária.

Fatores de Risco		
Não modificáveis	Modificáveis	Emergentes
Sexo masculino	Dislipidemias	Inflamação/Infeção
Idade:	LDL (>160 mg/dL)	Fatores Hemostáticos
Homens ≥ 45 anos	HDL (<40 mg/dL)	(fibrinogénio)
Mulheres ≥ 55 anos	HTA	Homocisteína
História familiar:	(≥140 mg/dL)	Proteína C reativa
Doença coronária num familiar masculino em 1º grau com <55 anos ou feminino com <65 anos	Consumo tabágico	
	Obesidade	
	Inatividade Física	
	Álcool	
Origem étnica:	Stress psicológico	
Afro-americanos		

1.6 Efeitos da Isquemia e Necrose

A isquemia do miocárdio faz com que as células do miocárdio troquem o metabolismo aeróbio pelo anaeróbio, com uma progressiva depleção das reservas de fosfatos de alta energia e comprometimento de função mecânica e elétrica do coração.⁽³⁾

As consequências da isquemia do miocárdio variam de acordo com a severidade, a extensão, a duração, o modo de início e recorrência, podendo resultar em comprometimento global da função contrátil e arritmias que podem pôr em risco a vida.⁽³⁾

Durante a isquemia ocorrem diversas alterações metabólicas: a adenosina trifosfato (ATP) é degradada a adenosina que se difunde dos cardiomiócitos, causando dilatação arterial e dor anginal. Os ácidos gordos livres e acil-carnitina acumulam-se e a síntese proteica e o *turnover* ficam comprometidos nas células do miocárdio. Além disso, os produtos de reperfusão da isquemia produzem radicais livres, que contribuem para a disfunção pós-isquêmica das células do miocárdio por reagir com proteínas, lípidos e ácidos nucleicos.⁽³⁾

Verifica-se o comprometimento da libertação de iões cálcio (Ca^{2+}) do sarcolema e do retículo sarcoplásmico, inibição da formação da ponte cruzada e competição do ião de hidrogénio (H^+) (acumulado durante a isquemia) pelos sítios de ligação do Ca^{2+} nas proteínas contrateis, o que conduz a disfunção sistólica. O comprometimento das bombas iónicas provoca perda de iões potássio (K^+) intracelular e acumulação de iões

de sódio (Na^+), Ca^{2+} e água (H_2O). As alterações dos gradientes iônicos podem aumentar a automaticidade e anormalidades na condução do impulso, desencadeando o circuito de reentrada.⁽³⁾

As consequências da isquemia e da lesão de reperfusão-isquêmica podem, também, estender-se às células endoteliais com alterações inflamatórias, resultando em vasoconstrição e tendência local trombogénica.⁽³⁾

Em termos de efeitos da função cardíaca, os estudos experimentais em animais revelaram a oclusão coronária repentina pela redução gradual do fluxo coronário e pelo aumento do consumo de oxigénio miocárdial (MVO_2) na presença de estenose coronária. Estes modelos experimentais imitam, em certa medida, as consequências de isquemia do miocárdio observadas na angina variante, angina instável e angina de esforço, respetivamente.⁽³⁾

O EM é definido patologicamente como morte celular miocárdica devido a isquemia prolongada. Após o início da isquemia, a morte celular não é imediata, mas ocorre num período finito de tempo: 20 minutos ou menos. No entanto, são necessárias horas até que a necrose miocárdica possa ser identificada macro ou microscopicamente numa examinação *post-mortem*.⁽⁴²⁾

A completa necrose das células do miocárdio em risco requerem pelo menos 2-4 horas, ou mais, dependendo da presença de circulação colateral na zona isquémica, oclusão arterial intermitente ou persistente, sensibilidade dos miócitos à isquemia, condições pré-existent e necessidade individual de oxigénio e nutrientes.⁽⁴²⁾

1.7 Diagnóstico da Síndrome Coronária Aguda

1.7.1 Apresentação Clínica

A AI/ EMSSDST são eventos intimamente relacionados com apresentação clínica, tratamento e patogénese semelhantes, embora de gravidade diferente.

O diagnóstico dos doentes com AI/ EMSSDST pode não ser definitivo no momento da apresentação no serviço de urgência e evoluir nas horas ou dias subsequentes. Portanto, a abordagem dos doentes com AI/ EMSSDST segue uma progressão através de vários processos de estratificação do risco, os quais dependem da história clínica,

manifestações clínicas e resultados complementares que determinam a escolha do tratamento. ⁽¹⁷⁾

O sintoma relevante da AI/EMSSDST é a dor torácica, geralmente localizada na região subesternal ou às vezes no epigástro, irradiando-se para o pescoço, ombro e/ou braço esquerdos. Este desconforto, normalmente, é suficientemente grave para poder ser descrito pelo doente como “dor latente”. Sobretudo, nas mulheres, podem surgir sintomas como dispneia e desconforto epigástrico. Quando a área da isquemia é extensa, pode também surgir sudorese, pele fria, taquicardia sinusal, terceiro e quarto som cardíacos e, por vezes, hipotensão, dando origem a um quadro clínico semelhante ao observado para EMCS DST. ⁽⁴³⁾

No EMCS DST a dor pré-cordial é habitualmente semelhante à que surge na angina, mas é de intensidade mais acentuada, maior duração e não aliviada pela nitroglicerina (NTG) sublingual. As manifestações clínicas associadas incluem náuseas e vômitos, sudorese, dispneia e desconforto extremo. A dor pode ser atípica, por exemplo, epigástrica, ou com irradiação para o dorso. ⁽¹⁷⁾

Doentes diabéticos e hipertensos e idosos podem apresentar um enfarte indolor (enfarte “silencioso”) e/ou um enfarte atípico. As manifestações de apresentação incluem dispneia por edema agudo do pulmão, síncope ou coma por disritmias, estados confusionais agudos (mania/psicose), crises diabéticas hiperglicémicas, hipotensão/choque cardiogénico e manifestações neurológicas que se assemelham a um AVC, associadas a uma redução súbita do débito cardíaco e embolização periférica. ^(17,44)

A maioria dos doentes com EMCS DST apresenta-se inquieta, movimentando-se no leito, mudando de posição e esticando o corpo para tentar aliviar a dor. A palidez associada a extremidades frias e sudorese são comuns. A combinação da dor torácica retroesternal durante mais de 30 minutos e sudorese sugerem fortemente tratar-se de um EMCS DST. Ainda que muitos doentes apresentem frequência cardíaca e pressão arterial normais durante a primeira hora do enfarte, 25% dos doentes com *enfartes anteriores* revelam sinais de hiperatividade do sistema nervoso simpático (taquicardia e/ou hipertensão), e até 50% dos doentes com *enfarte inferior* mostram evidências de hiperatividade parassimpática (bradicardia e/ou hipotensão). O pulso carótido muitas

vezes apresenta redução do volume, refletindo o volume sistólico reduzido. Podem observar-se elevações da temperatura até 38° C durante a primeira semana, após o EMCS DST. ⁽⁴³⁾

1.7.2 O eletrocardiograma

O eletrocardiograma (ECG) é um registo gráfico dos potenciais elétricos gerados pelo coração. ^(22,45,46) A utilidade clínica do ECG deriva do facto de os resultados estarem imediatamente disponíveis, ser um método não invasivo, barato, e altamente versátil. ^(22,45,46)

A figura que se segue mostra as ondas básicas de um ECG normal.

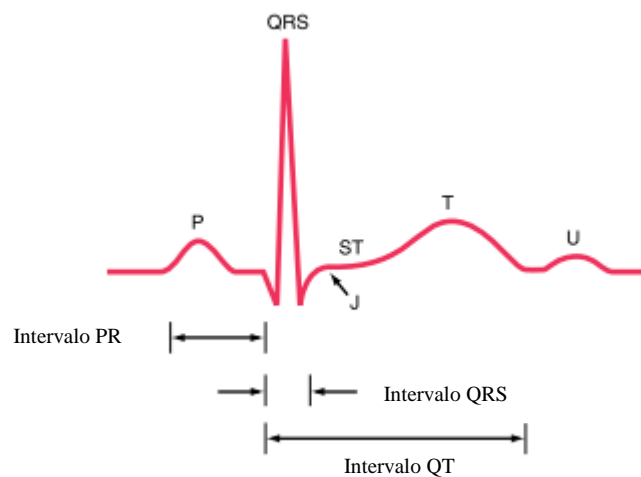


Figura 1.8 - Traçado de um ECG normal. (Adaptado de *Harrison's*, 2005)

O ECG é um exame útil para auxiliar o diagnóstico de isquemia e enfarte do miocárdio. Os resultados estão disponíveis rapidamente e a sua monitorização constante dá informação adicional para o diagnóstico e prognóstico. ⁽¹⁾

O ECG é o principal meio para deteção da isquemia do miocárdio e deteta os dois tipos já referidos ^(1,21,22,45,46).

- O primeiro tipo está associado com a elevação (supradesnivelamento) do segmento ST e é frequentemente causado pela oclusão trombótica de uma artéria coronária epicardial – *isquemia transmural*. A combinação de dor torácica com a elevação do segmento ST tem um elevado valor preditivo positivo para a oclusão arterial coronária.

- A outra forma de isquemia do miocárdio é a isquemia sem elevação do segmento ST – *isquemia subendocardial*. Neste caso, o segmento ST apresenta uma depressão, mas também podem ver-se ondas T negativas ou não apresentar alterações significativas no ECG. Uma vez que há vários agentes que podem produzir depressão do segmento ST e alterações da onda T, estas alterações do ECG têm apenas um valor preditivo moderado para o diagnóstico de enfarte do miocárdio.

A elevação ou depressão profundas do segmento ST em múltiplas derivações indicam isquemia severa.⁽²²⁾

Durante algum tempo, as ondas Q anormais foram consideradas marcadores de enfarte miocardial transmural, enquanto enfartes subendocardiais não produziam ondas Q. No entanto, estudos correlativos eletrocardiográfico-patológicos têm indicado que enfartes transmuraais podem ocorrer sem ondas Q, enquanto enfartes subendocardiais podem ser, por vezes, associados a ondas Q, sugerindo que o desenvolvimento de uma onda Q no ECG é mais dependente do volume de tecido enfartado que da transmuralidade do enfarte.⁽²²⁾

Do ponto de vista clínico, a divisão em EMCS DST e EMSS DST é útil, uma vez que a indicação formal para terapia de reperfusão aguda está limitada ao primeiro tipo.⁽²²⁾

Os achados eletrocardiográficos no diagnóstico da SCA⁽⁴⁴⁾ estão enumerados na Tabela 1.8.

Tabela 1.8 - Achados eletrocardiográficos no diagnóstico da Síndrome Coronária Aguda. (Adaptado de Achar, 2005)

Achados ECG	Lesão	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	Valor preditivo positivo (%)	Valor preditivo negativo (%)
Elevação do segmento ST maior na derivação III do que na sonda II e depressão do segmento ST de mais de 1 mm na derivação I, aVL ou ambas	Artéria coronária direita	90	71	94	70
Ausência dos achados acima descritos mais elevação do segmento ST nas derivações I, aVL, V ₅ e V ₆ a depressão do segmento ST nas derivações V ₁ , V ₂ e V ₃ .	Artéria coronária circunflexa esquerda	83	96	91	93
Elevação do segmento ST nas sondas V ₁ , V ₂ e V ₃ com uma das características abaixo: - Elevação segmento ST >2,5 mm na derivação V ₁ , bloqueio do ramo direito com onda Q, ou ambas; - Depressão do segmento ST > 1mm nas derivações II, III, a aVF; - Depressão do segmento ≤1mm ou elevação dos segmento ST nas derivações II, III e aVF.	Parte proximal da artéria coronária esquerda Parte distal da artéria coronária esquerda	12 34 66	100 98 73	100 93 78	61 68 62

1.7.3 Biomarcadores Cardíacos

No ano 2000, a conferência de consenso da Sociedade Europeia de Cardiologia e do Colégio Americano de Cardiologia (ESC/ACC) esclareceu o papel dos biomarcadores cardíacos, especialmente a troponina cardíaca T (cTnT) e a troponina cardíaca I (cTnI), ao defender que o diagnóstico requer evidências de lesão miocárdica com aumento das

concentrações séricas de marcadores cardíacos de lesão (Anexo I). As diretrizes reconhecem, assim, a realidade de que nem o quadro clínico, nem o ECG têm sensibilidade e especificidade adequadas.^(15,47)

Variados biomarcadores têm sido utilizados para monitorizar e avaliar a lesão e a disfunção miocárdica. A maioria são proteínas miocárdicas que diferem na sua localização, cinética após a lesão e *clearance*.⁽¹⁵⁾

Os biomarcadores cardíacos séricos são proteínas libertadas pelo miocárdio necrótico após EM. O padrão temporal de libertação tem importância diagnóstica, mas as atuais estratégias de reperfusão urgentes exigem que a decisão seja tomada com base na combinação da apresentação clínica e no resultado do ECG, antes que os resultados dos exames de sangue sejam conhecidos. As troponinas cardíacas, cTnI e cTnT, atualmente consideradas o *gold standard*, no diagnóstico de EM, são particularmente valiosas, quando há suspeitas de lesão do músculo-esquelético, ou um pequeno EM que pode estar abaixo do limite de deteção para os valores de creatina cinase (CK) e da sua isoenzima CK-MB.⁽⁴³⁾

No próximo capítulo desta dissertação, faz-se uma abordagem mais pormenorizada dos biomarcadores cardíacos atuais e dos novos/emergentes biomarcadores, cujas potencialidades ainda estão a ser estudadas com vista a contribuírem também para o diagnóstico e prognóstico na síndrome coronária aguda.

2 Biomarcadores Cardíacos

2.1 Definição de Biomarcador

Um *biomarcador* é definido como uma característica molecular, biológica ou física que indica um estado fisiológico específico. É usado na prática clínica para identificar o risco de desenvolver determinada doença, estabelecer um diagnóstico, avaliar a severidade da doença, orientar estratégias de intervenção e monitorizar a resposta do doente à terapêutica.⁽⁴⁸⁾

Desta forma, um *biomarcador cardíaco* é um biomarcador com utilidade clínica em doenças cardíacas, nomeadamente, auxiliando na deteção de distúrbios cardíacos ou em situações de risco de desenvolver tais distúrbios ou monitorizar a doença ou a resposta ao tratamento instituído.⁽¹⁵⁾

2.2 Perspetiva Histórica

Os biomarcadores cardíacos têm tido um papel muito importante no diagnóstico e na monitorização de doentes com DCV desde 1950. ^(49,50)

Nesta data, relatórios clínicos indicavam que as transaminases libertadas dos miócitos necrosados podiam ser detetadas através de testes laboratoriais, ajudando no diagnóstico do EM, entrando-se, assim, na era das “enzimas cardíacas”. ^(23,50) É por esta altura que se inicia o caminho para definir marcadores clínicos que auxiliassem no diagnóstico, prognóstico e estratificação de risco dos doentes. ⁽²³⁾ O princípio subjacente é o de que a morte celular origina a libertação de proteínas celulares para a circulação sanguínea, permitindo o seu doseamento. ⁽⁵⁰⁾

Os primeiros marcadores séricos incluíam a Aspartato Aminotransferase (AST), Lactato Desidrogenase (LD), Creatina Cinase (CK) e α -hidroxibutirato. ⁽²³⁾ Todas estas enzimas são libertadas em quantidades variáveis pelos miócitos, após a morte dos mesmos. No entanto, a sua falta de especificidade e sensibilidade para a necrose do músculo cardíaco incentivou a procura de marcadores alternativos. ⁽²³⁾

Em 1960, já a CK era conhecida como uma enzima libertada durante a necrose muscular (incluindo o músculo cardíaco). Ensaio quantitativo espectral para determinação do CK total foram desenvolvidos no final da década de 60, constituindo uma forma de doseamento rápida e reprodutível. ⁽²³⁾

Mais tarde, em 1970, descobriu-se que a fração MB da CK elevada é mais específica para EM. As isoenzimas da CK foram doseadas por eletroforese em 1972: CK-BB, CK-MB, CK-MM. Ainda nesta década, iniciaram-se os doseamentos da mioglobina, mas que por ser a proteína de ligação ao oxigénio, tanto no músculo-esquelético como no músculo cardíaco, também não possui a cardioespecificidade necessária. ⁽²³⁾

No final dos anos 80, a CK-MB passou a ser determinada através de testes altamente sensitivos com anticorpos monoclonais. ⁽²³⁾

À medida que a determinação da CK-MB se tornava mais sensível, a comunidade científica apercebia-se de que esta isoenzima também não era totalmente específica para o músculo cardíaco. ⁽²³⁾

Assim, a investigação concentrou-se no estudo e doseamento de proteínas sarcoméricas. As cadeias leves de miosina foram isoladas, mas quase imediatamente abandonadas devido à fraca especificidade. ⁽²³⁾

Em 1987, a cTnI foi descrita pela primeira vez como um biomarcador específico para EM. Dois anos depois, em 1989, surge a cTnT. Atualmente, as cTnI e cTnT são consideradas o marcador *gold standard* para o diagnóstico de EM, segundo as *guidelines* internacionais, nomeadamente o consenso ESC/ACC. ^(23,51)

A Figura 2.1 contém os eventos mais importantes, entre 1950 e 2000, no desenvolvimento de biomarcadores cardíacos.

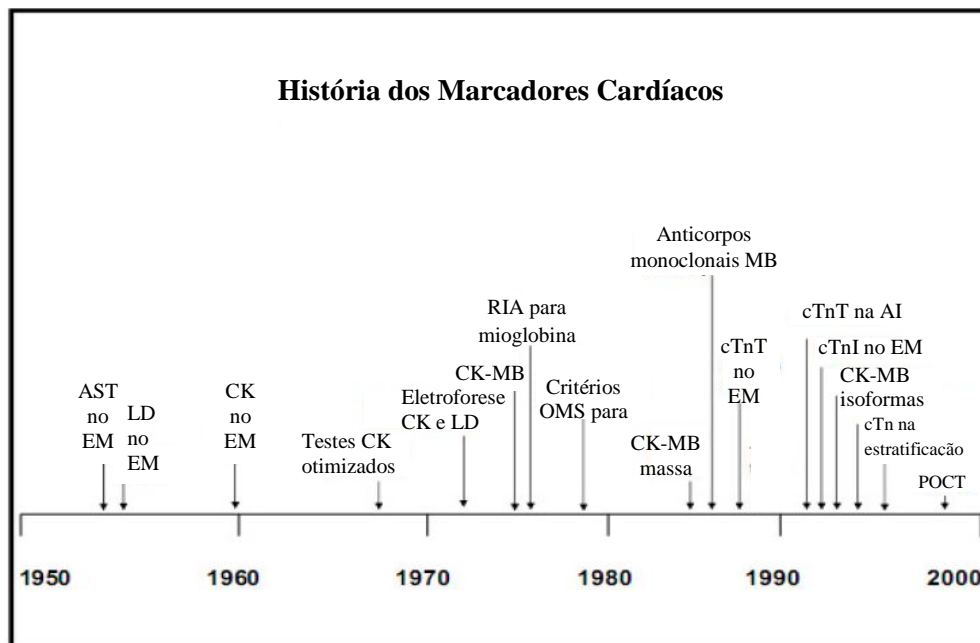


Figura 2.1 – Cronologia com os eventos mais importantes no desenvolvimento dos biomarcadores cardíacos entre 1950 e 2000. AST: aspartato aminotransferase; EM: enfarte do miocárdio; LD: lactato desidrogenase; CK: creatina cinase; RIA: radioimunoensaio; OMS: Organização Mundial de Saúde; cTnT: troponina cardíaca T; AI: angina instável; cTnI: troponina cardíaca I; POCT: plataformas de testes *point-of-care*. (Adaptado de Lakshmanadoss, 2012)

2.3 Biomarcadores Cardíacos Laboratoriais

Um biomarcador cardíaco, para ser considerado “ideal,” deve apresentar as seguintes características ^(12,13,18,23,52):

- ✓ Cardioespecificidade e sensibilidade: deve ser sintetizado e libertado pelo coração e estar ausente no sangue de indivíduos sãos;

- ✓ Aparecer muito cedo na circulação, permitindo o reconhecimento/diagnóstico precoce de EM ou doentes em risco de vir a sofrer um EM;
- ✓ Semi-vida suficientemente longa para permitir diagnósticos tardios;
- ✓ Apresentar aumentos correlacionados com o prognóstico;
- ✓ Doseamento através de um método adaptado à urgência: rápido e com resultados disponíveis em menos de 60 minutos, reprodutível, padronizado e com boa sensibilidade e precisão analíticas;
- ✓ Não ser influenciado pelo funcionamento de outros órgãos, em particular, pelo rim.

Os biomarcadores cardíacos dividem-se, essencialmente, em três categorias: *marcadores de inflamação, marcadores de isquemia e marcadores de necrose.* ^(18,23,49)

Nesta dissertação, classificar-se-ão também os biomarcadores em função da sua atualidade: biomarcadores ultrapassados, atuais e novos biomarcadores (estes últimos a serem desenvolvidos no terceiro capítulo).

Em relação aos valores de referência dos biomarcadores apresentados ao longo desta dissertação, convém salientar que, estes valores são obtidos por observação/doseamento de um tipo particular de analito referente a um grupo de referência, abrangendo 95% da população. Assim sendo, o doente examinado deve assemelhar-se com os indivíduos-referência em todos os aspetos que não aqueles sob investigação, bem como todos os resultados laboratoriais devem ser produzidos com o uso de métodos padronizados sob suficiente controlo de qualidade analítico. Posto isto, e tendo em conta que muitos dos biomarcadores aqui discutidos (sobretudo os “novos” biomarcadores) ainda não estão validados e que as técnicas utilizadas para o seu doseamento e a população em estudo são diferentes de estudo para estudo, é expectável que os valores de referência apresentados sejam discrepantes entre vários artigos e as unidades variem conforme as técnicas aplicadas para a sua determinação. ⁽¹⁴⁾

2.3.1 Biomarcadores Ultrapassados

Aspartato Aminotransferase (AST)

A introdução da determinação da aspartato aminotransferase (AST), em 1954, foi um marco importante para o diagnóstico laboratorial do enfarte agudo do miocárdio. ⁽⁵³⁾ Esta

enzima catalisa a reação do α -cetoglutarato com o aspartato originando L-glutamato e oxaloacetato e a reação inversa. ⁽⁵⁰⁾

Outrora designada de transaminase oxaloacética (GOT), a AST torna-se elevada no soro, após a ocorrência de EM em 90-95% dos doentes. Os níveis de AST tornam-se elevados dentro de 8-12 horas, após a necrose do miocárdio, atingindo um pico de concentração entre as 24-48 horas após o enfarte e, retornam aos seus níveis normais, entre 3 a 8 dias. ⁽⁵⁴⁾

Os níveis sanguíneos de AST correspondem, aproximadamente, à extensão do enfarte e podem exibir uma anormalidade apenas transitória e mínima. ⁽⁵⁴⁾

Além da lesão do miocárdio, o nível de AST pode sofrer elevação, em consequência da lesão das células parenquimatosas do fígado, músculo-esquelético, rim e pâncreas. A lesão hepatocelular é especialmente comum: congestão hepática, cirrose ativa e hepatite aguda ou crônica. Porém também ocorrem níveis aumentados de AST na presença de lesão da musculatura esquelética e de pancreatite. A hipopotassemia crônica pode também elevar os níveis de AST, bem como a administração de morfina e meperidina, ainda que neste caso os aumentos sejam temporários. ⁽⁵⁴⁾

As principais desvantagens do nível de AST no diagnóstico do EM residem nas numerosas condições (algumas descritas acima), passíveis de produzir elevação da AST. ⁽⁵⁴⁾ Pela fraca cardioespecificidade, o doseamento de AST deixou de ser recomendado para o diagnóstico de EM. ^(10,50)

Lactato Desidrogenase (LD)

A lactato desidrogenase (LD) catalisa a reação da conversão do lactato em piruvato, na presença de dinucleótido de nicotinamida e adenina oxidado (NAD^+). ⁽⁵⁰⁾

A LD é uma macromolécula citoplasmática ⁽¹³⁾ bastante grande, com peso molecular de 134 000 Da, libertada pelo miocárdio necrótico e que pode ser detetada no soro, até 14 dias após o evento cardíaco. ^(13,50)

Os níveis de LD apresentam-se elevados em 92-95% dos doentes com EM. No caso de EM, a LD torna-se elevada dentro de 24-48 horas após o evento, atinge um valor máximo dentro de 48-72 horas e diminui lentamente para valores normais dentro de 5 a 10 dias. ⁽⁵⁴⁾

Os níveis de LD tendem a ser paralelos aos de AST, com aproximadamente o dobro do tempo de intervalo. O nível de LD total é ligeiramente mais sensível do que o nível de AST no EM e foi também registado um aumento de LD, mesmo em pequenos enfartes onde não se verificam aumentos da AST.⁽⁵⁴⁾

No entanto, também a LD apresenta fraca cardioespecificidade, uma vez que esta enzima está presente em numerosos órgãos e tecidos: coração, fígado, músculo esquelético, eritrócitos, rins, neoplasias, pulmões e linfócitos.^(15,54)

O seu doseamento, para diagnóstico do EM, foi abandonado por falta de cardioespecificidade.^(10,52) Na realidade, a LD consiste num grupo de 5 isoenzimas.^(54,55) Cada isoenzima é um tetrâmero constituído por quatro subunidades: subunidade H (cadeia polipeptídica cardíaca) e subunidade M (cadeia polipeptídica músculo-esquelética).^(13,50,54) As isoenzimas que formam o nível total de LD ocorrem em diferentes concentrações e em diferentes tecidos.^(50,54) (Tabela 2.1)

Tabela 2.1 - Concentração relativa das diferentes isoenzimas nos diferentes órgãos. (Adaptado de *U.S. National Library of Medicine*, 2013 e *Henry's*, 2011)

Isoenzima	Miocárdio	Rim	Fígado
LD1 (HHHH)	++++	+	+/-
LD2 (HHHM)	++++	+	+/-
LD3 (HMMM)	+	++	+
LD4 (HMMM)	+/-	++	++
LD5 (MMMM)	+/-	++	++++

Desta forma, o tecido responsável pela ocorrência de uma elevação no valor de LD total, quase sempre pode ser identificado mediante fracionamento e determinação das isoenzimas. Além disso, como a margem para os valores e referência do nível de LD total na população é bastante ampla (até 190 IU/L), pode ocorrer elevação de uma isoenzima sem que ocorra desvio do nível de LD total.⁽⁵⁴⁾

Para melhorar a especificidade, efetua-se a determinação das 5 isoenzimas de LD. De acordo com a nomenclatura internacional, a fração 1 é encontrada principalmente nos eritrócitos e no coração, a fração 3 provém dos pulmões e a fração 5 localiza-se principalmente no fígado e, em menor grau, no músculo-esquelético.⁽⁵⁴⁾

Os dois métodos mais comumente utilizados são o calor e a eletroforese^(54,55), tendo sido esta última a mais amplamente utilizada.^(55,56) O aquecimento a 60°C durante 30 minutos destrói a maior parte da atividade da enzima, à exceção das frações 1 e 2 que são termoestáveis.^(54,55) Com a eletroforese, as frações de migração rápida são a 1 e a 2 (coração) enquanto a 5 é de migração lenta (fígado).^(54,55) A eletroforese tem a vantagem de mostrar a contribuição relativa de todas as frações. O fracionamento da LD proporciona um meio de diagnosticar o EM, quando se suspeita que a lesão hepática está a contribuir para o aumento da LD total.⁽⁵⁴⁾

Na Figura 2.2 encontram-se representados os vários padrões característicos das isoenzimas da LD.

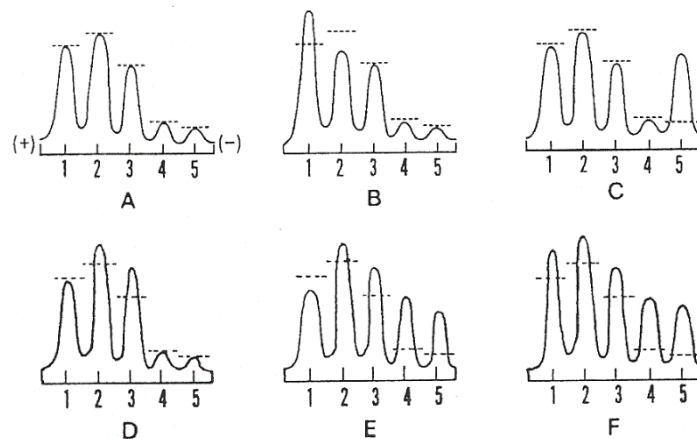


Figura 2.2 - Padrões representativos das isoenzimas da LD com as etiologias mais frequentes. A – Normal; B – EM/anemia hemolítica ou megaloblástica; C – Lesão hepatocelular aguda; D – Hipóxia pulmonar/Congestão pulmonar/Mieloma; E – anormalidade pulmonar e hepática; F – Congestão multiorgânica/neoplasia maligna/outros distúrbios (Adaptado de Ravel, 1995)

No EM, o padrão típico consiste na elevação dos níveis LD1 que são superiores aos de LD2, dando origem a uma razão LD1/LD2 superior a 1⁽⁵⁷⁾, sendo que, em condições normais, a LD2 está presente em concentrações superiores à LD1, conduzindo a uma razão LD1/LD2 inferior a 1. No entanto, o EM pode resultar em congestão pulmonar ou hipoxia, com elevação de LD2 e LD3, mas também pode produzir congestão hepática ou hipoxia com elevação LD4 e LD5. O EM também pode conduzir a hipoxia multiorgânica ou choque. No choque, todas as frações estão aumentadas e, em casos mais graves, todas tendem a atingir igual incremento eletroforético. Porém, um valor normal de LD1, em amostras obtidas entre 24-48 horas após o início dos sintomas, representa uma notável evidência que exclui o EM, enquanto a elevação do LD1, com valor de LD1 superior ao de LD2, constitui uma evidência de EM. É de salientar que,

atletas sujeitos a exercício físico intenso, possam apresentar inversão da relação LD1/LD2 após o exercício.⁽⁵⁴⁾

Para além da fraca especificidade, este biomarcador aparece tarde na circulação sanguínea, o que constitui outra desvantagem da LD.^(54,56) Outro problema é o facto de a eletroforese ser uma técnica lenta, à qual ainda se segue uma análise densitométrica, e procedimentos demorados deste tipo não são compatíveis com as abordagens de emergência a que o doente com EM, ou com suspeita de EM, está sujeito.⁽⁵⁰⁾

Entretanto, surgiram métodos de doseamento baseados em imunoensaios para a determinação isolada de LD1. É aceite que a LD1 é superior à relação LD1/LD2 no diagnóstico do EM, no que diz respeito à sensibilidade: a inversão típica da relação LD1/LD2 é observada apenas em 80-85% dos doentes com EM; em alguns casos, a inversão da relação é encoberta por um aumento dos valores de LD2, devido à hipoxia pulmonar que ocorre, concomitantemente, com a elevação dos níveis de LD1 por via do EM. No entanto, verifica-se uma perda de especificidade: os níveis de LD1 podem estar aumentados na hipoxia miocárdica sem qualquer evidência definida de EM; o valor da LD1, obtido por imunoensaio, apresenta-se aumentado em todos os distúrbios não cardíacos que revertem a relação LD1/LD2. (Tabela 2.2) Desta forma, o aumento de sensibilidade obtido com o imunoensaio da LD1 no EM, deve ser contrabalançado com a possível perda de especificidade.⁽⁵⁴⁾

Tabela 2.2 - Causas da elevação da LD1. (Adaptado de Ravel, 1995)

Causas de elevação da LD1
Enfarte do Miocárdio (EM)
Hipoxia do músculo cardíaco sem EM
Hemólise da amostra sanguínea
Anemia hemolítica
Anemia megaloblástica
Enfarte do córtex renal
Tumores de células germinativas
Padrão isoenzimático isomórfico da LD
Hipoxia multiorgânica
Neoplasia
Outras condições clínicas

As desvantagens, aqui apresentadas, deste biomarcador fizeram com que o seu doseamento para diagnóstico do EM fosse abandonado e substituído por outros biomarcadores, que surgiram entretanto.^(13,50)

Creatina Cinase Total (CK)

A CK é uma enzima que catalisa a reação de transferência do fosfato da creatina fosfato para a adenosina difosfato (ADP), produzindo adenosina trifosfato (ATP).^(23,50,52) Está distribuída por vários tecidos, nomeadamente músculo-esquelético e cardíaco, cérebro e em quantidades menores no intestino e pulmões.^(23,52)

A CK total pode estar aumentada com o aumento do exercício físico, *stress* ou trauma. Num estudo com atletas corredores de maratona, os níveis de CK total estavam 21 vezes mais elevados em comparação com os valores de referência.^(52,54) Desta forma, um aumento na CK total sérica carece de especificidade para a lesão cardíaca.^(52,54) (Tabela 2.3)

Tabela 2.3 - Causas da Creatina Cinase Total elevada. (Adaptado de *Robinson, 1999*)

Causas da Creatina Cinase Total elevada		
Cardíacas	Não Cardíacas	
Contusão cardíaca	Psicose Aguda	Diabetes <i>Mellitus</i>
Pericardite	Miopatia acromegálica	Distrofia muscular <i>Duchenne</i>
Cirurgia Cardíaca	Miopatia alcoólica	Êmbolo pulmonar
Cateterização Cardíaca	Enfarte cerebral	Hiper ou hipotermia
Desfibrilhação	Esclerose lateral amiotrófica	Hipotireoidismo
Enfarte do Miocárdio	Doença renal crónica	Infeção <i>Trichinella spiralis</i>
Isquemia do Miocárdio	Toxicidade	Injeções IM*
Miocardite	Convulsões	Poliomiosite
Trauma	<i>Delirium tremens</i>	Rabdomiólise
	Dermatomiosite	Síndrome de <i>Reye</i> , entre outras

*IM:intramuscular

Para além disso, a margem de valores normais do CK, também pode variar consideravelmente. Em indivíduos idosos com baixa massa muscular, o CK total permanece em valores muito baixos e, portanto, em situação de lesão cardíaca, o aumento do CK pode, mesmo assim, manter-se dentro de uma margem de valores normais, impossibilitando o diagnóstico com base neste marcador.^(23,54)

Devido ao período relativamente curto, durante o qual a enzima se encontra elevada, após o início do enfarte (Figura 2.3) e pelas várias condições que provocam falsos positivos, o CK total não é usado como marcador diagnóstico para a lesão do miocárdio.^(23,54)

Valores de referência

Podem variar entre os 1 e os 100 IU/mL. Normalmente os valores encontram-se abaixo dos 70 IU/mL. Em média, os homens apresentam valores mais elevados de CK em relação às mulheres.⁽⁵²⁾ Os níveis normais de CK em homens afro-americanos equivalem ao dobro dos valores para os homens europeus.⁽⁵⁴⁾

Mioglobina

A mioglobina é uma proteína de ligação ao oxigénio do músculo cardíaco e esquelético com uma massa molecular de 17,800 Da.^(12,13,15,23,50) Foi a primeira proteína não enzimática usada no diagnóstico de EM.⁽⁵⁸⁾

A mioglobina tem a vantagem de aparecer na circulação mais cedo do que a CK-MB, após o EM.^(12,13,15,23,50,58)

O facto de esta proteína ter um baixo peso molecular e estar localizada no citoplasma justificam o seu aparecimento muito cedo na circulação a seguir à lesão muscular, com elevada sensibilidade e elevado valor preditivo negativo.^(12,13,15,23,58)

No entanto, não há diferença entre a mioglobina no músculo cardíaco e a mioglobina no músculo-esquelético. Isto significa que, o aumento de mioglobina na circulação pode ocorrer tanto após EM, como após lesões de natureza não cardíaca. Desta forma, a falta de cardioespecificidade (60-90%) é uma desvantagem deste biomarcador.^(12,13,23) Outro aspeto negativo é o facto de esta proteína ser eliminada pelo rim, o que significa que alterações da função renal também podem originar aumentos de mioglobina.^(13,15,58) Por estas razões, a mioglobina já não tem utilidade clínica no diagnóstico da SCA, fazendo parte dos biomarcadores cardíacos ultrapassados.⁽¹⁴⁾

Técnicas de Quantificação

A mioglobina tem sido determinada por meio de vários métodos, nomeadamente por radioimunoensaio (RIA), aglutinação em látex e testes de quantificação da mioglobina através de anticorpos monoclonais.^(13,15) No método RIA uma quantidade conhecida de

antigénio (Ag) é tornada radioativa, sendo depois misturada com uma quantidade conhecida de anticorpo (Ac). Adiciona-se a amostra contendo uma quantidade não conhecida de Ag o que vai provocar a competição entre os dois antigénio (o marcado radioativamente e o não marcado). Quanto mais Ag não marcado existir, menos Ag radiativo se liga ao Ac, diminuindo a radioatividade que é medida.⁽¹⁵⁾ Embora forneçam resultados rápidos (30 minutos) os testes de aglutinação em látex são apenas semi-quantitativos. Os testes quantitativos nefelométricos (15 a 30 minutos), turbidimétricos (2 minutos) e fluorescentes (8 minutos) têm sido comercializados e incorporam anticorpos monoclonais.^(13,59)

Valores de referência

Os valores de referência para a mioglobina encontram-se entre os 10-92 mg/L e variam com a idade, etnia e género. Normalmente, as concentrações de mioglobina aumentam com a idade, os homens têm a mioglobina mais elevada que as mulheres, e africanos e americanos têm maiores concentrações que caucasianos.^(13,15)

As concentrações séricas de mioglobina aumentam acima do valor de referência, uma hora logo após do início do EM, atingindo um pico de 2 a 12 horas, sugerindo que a mioglobina reflete o início da ocorrência da necrose do miocárdio e retoma os valores normais antes das 24 horas.^(10,13,15,23,50) No entanto, uma vez que a mioglobina é rapidamente eliminada pelo rim, este marcador perde sensibilidade após 12 horas pelo que, a sua utilidade na deteção do EM situava-se, principalmente, entre as 0 até as 4h, precisamente no período em que a CK-MB e, possivelmente, as troponinas ainda se encontram nos respetivos intervalos de referência.^(15,54)

A Tabela 2.4 que se segue resume as características cinéticas dos marcadores cardíacos ultrapassados.

Tabela 2.4 - Características da cinética dos marcadores cardíacos ultrapassados. (Adaptado de *Ravel, 1995*)

	Início da elevação	Pico	Normalização
AST	8-12 h	24-48 h	3-8 dias
LD total	24-48 h	48-72 h	5-10 dias
LD-1	24 h	3 dias	12 dias
CK total	4-6 h	24 h	3-4 dias
Mioglobina	1 h	2-12 h	Até 24 horas

A Figura 2.3 representa o gráfico com os diferentes perfis de libertação dos marcadores cardíacos ultrapassados, com a exceção da mioglobina.

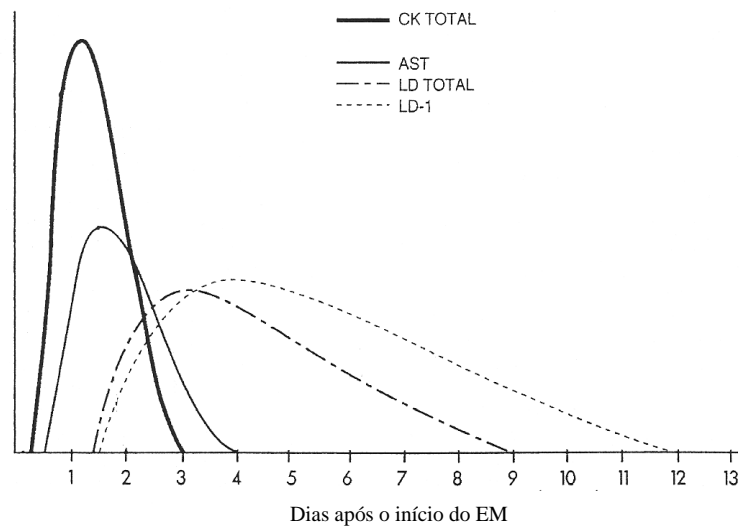


Figura 2.3 - Perfis de libertação dos marcadores cardíacos ultrapassados. EM: enfarte do miocárdio (Adaptado de *Ravel, 1995*)

2.3.2 Marcadores Atuais

CK-MB

A enzima creatina cinase é um dímero composto por dois monómeros M (43 000 Da) e B (44 500 Da), dando origem, por isso, a três isoenzimas citosólicas: CK-MM, CK-MB e CK-BB. ^(13,15,23,50,52,54)

A percentagem de fração CK-MB encontrada no coração é mais elevada do que nos outros tecidos (10-20% no músculo cardíaco e apenas 2-5% no músculo esquelético ^(12,13,15,50)) estando, por isso, associada ao EM, quando se encontra aumentada. Por sua vez, a CK-BB encontra-se principalmente no cérebro e está aumentado em doenças neurológicas, prostatectomia e tumores digestivos. A CK-MM encontra-se principalmente no músculo-esquelético, estando elevada em casos de miopatia, hipotireoidismo, polimiosite, rabdomiólise e exercício intensivo, mas também em EM. ^(12,23,50,52,54)

Assim, a CK-MB surge como um marcador bem mais específico para o tecido cardíaco, quando comparado com a CK Total. Um valor elevado de CK-MB é relativamente

específico para lesão do miocárdio, particularmente em doentes com sintomas isquémicos e quando não há evidência de lesão músculo-esquelética.^(13,23,54)

A CK-MB é produzida quase exclusivamente no miocárdio, com apenas pequenas quantidades encontradas no intestino delgado, língua, diafragma, útero e próstata. É degradada por proteólise na linfa e não é afetada por alterações da frequência cardíaca, pressão sanguínea ou débito cardíaco. Não é influenciada por alterações do fluxo renal ou hepático em testes com animais. No entanto, pode estar elevada em situações de insuficiência renal crónica.⁽⁵²⁾ É libertada apenas em situações de necrose do miocárdio e não em situações de isquemia.⁽¹⁰⁾

Outra vantagem da CK-MB é que os testes de doseamento podem ser executados de forma fácil e rápida.⁽²³⁾

No entanto, a CK-MB pode também estar presente no músculo-esquelético, não sendo, por isso, totalmente cardio-específico.^(13,54,58) O tamanho da enzima e o elevado peso molecular (86 000 Da) são responsáveis pelo atraso no aparecimento deste biomarcador, na circulação.^(13,54,58)

A CK-MB começa a libertar-se para o sangue 4-9 horas após o início da dor torácica. O seu pico verifica-se entre a 10-24 horas e retorna aos valores normais após 48-72 horas (por vezes antes).^(12,23,52,54) A partir do momento em que os níveis regressam ao normal, pode prever-se um re-enfarte, se ocorrerem novos aumentos.^(10,23) (Figura 2.4)

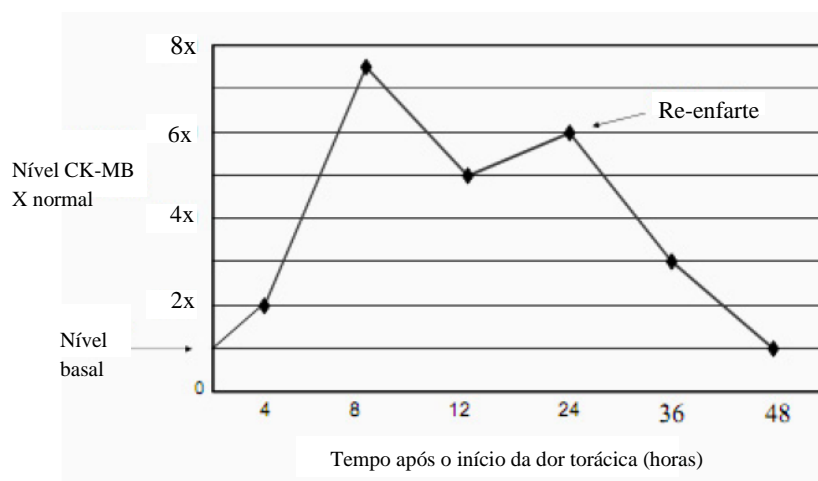


Figura 2.4 - Cinética da libertação da CK-MB após o enfarte. (Adaptado de *Lakshmanadoss, 2012*)

No entanto, a ACC/AHA recomendam que um aumento isolado de CK-MB não deve ser invocado para diagnosticar re-enfarte, mas deve ser acompanhado de elevação do

segmento ST no ECG e, pelo menos, um outro critério de apoio (por exemplo, dor torácica), em caso de doentes com o primeiro EM há menos de 18 horas. Para doentes com EM inicial há mais de 18 horas, um aumento do biomarcador e de, pelo menos, mais um critério são suficientes para estabelecer o diagnóstico. ⁽²³⁾

Convém assinalar que não deve ser estabelecido nenhum diagnóstico definitivo sem doseamentos seriados para detetar o aumento dos níveis de CK-MB. Os estudos para avaliar o índice relativo de CK-MB, comparado com o valor absoluto de CK-MB, têm revelado aumento na especificidade, mas perda de sensibilidade. O índice relativo CK-MB/CK é útil em doentes que têm apenas EM ou apenas lesão músculo-esquelética, mas não ambos. ⁽²³⁾

O diagnóstico do EM não deve ser baseado unicamente num índice relativo elevado, porque este pode estar aumentado em situações clínicas em que o CK total ou CK-MB estão dentro dos valores normais. Assim, o índice relativo é apenas útil, clinicamente, quando tanto o CK total como o CK-MB estão aumentados. ^(23,54)

Num EM o CK-MB é normalmente evidente entre 4 a 8 horas com pico entre 15-24 horas (pico 16x o normal) com sensibilidade e especificidade superior a 97% nas primeiras 48 horas. Às 72 horas, dois terços dos doentes ainda apresentam aumento do CK-MB. Devem ser recolhidas amostras a cada 6 horas, para determinar o valor do pico e evitar falsos negativos. Também podem surgir falsos positivos, em situações de desfibrilhação, após ressuscitação cardiopulmonar, cirurgias cardíacas e não cardíacas, trauma torácico com possível contusão cardíaca e uso de cocaína. ^(23,54)

A monitorização dos níveis de CK-MB pode ainda ser útil para fornecer informação, após fibrinólise, através da evidência não invasiva da reperfusão. ⁽²³⁾

Alguns autores consideram o teste da CK-MB para o diagnóstico de SCA obsoleto, devendo ser eliminado, no entanto, na prática clínica os médicos têm sido resistentes e continuam a solicitá-lo por ter sido um teste muito usado para esta finalidade mas por outro lado, por terem dificuldades em aplicar e interpretar as medições de cTn. Estas dificuldades residem em parte na heterogeneidade dos testes de cTn disponíveis, diversidade de *cutoffs* e na dificuldade em compreender aumentos de cTn não acompanhados de aumentos de CK-MB, devido à maior sensibilidade da cTn. ⁽¹⁴⁾ Há quem defenda que os testes da CK-MB representam uma despesa desnecessária sem

acrescentar valor e, são também prejudiciais para os doentes, na medida em que estes não estão a ser submetidos ao melhor teste de diagnóstico.⁽¹⁴⁾

Os que defendem a continuação da utilização do teste da CK-MB argumentam que este é útil particularmente em situações de re-enfarte, tal como já foi discutido anteriormente. No entanto, mais recentemente já foi possível comprovar que os valores de cTn também são capazes de detetar rapidamente e com maior sensibilidade e especificidade uma lesão recorrente.⁽¹⁴⁾

Pelo facto da questão do doseamento da CK-MB no diagnóstico de EM gerar controvérsia e não ser consensual, e sobretudo pelo facto de o doseamento desta enzima constar ainda nas recomendações da ACC/AHA, este biomarcador foi mantido no tópico dos marcadores atuais.^(14,51)

Técnicas de Quantificação

A primeira técnica de doseamento da CK-MB foi a eletroforese, a qual permaneceu como procedimento *standard* durante vários anos.⁽⁵²⁾ Trata-se de um método que se mostra razoavelmente sensível, sendo mais específico que a cromatografia em coluna, visto que, as várias frações das isoenzimas, podem ser examinadas visualmente, podendo detetar-se, portanto, a existência de variantes de migração atípica, como a “macro-CK”, variante da isoenzima BB, em que a isoenzima se torna complexada com a gamaglobulina, com conseqüente migração eletroforética do complexo entre MM e MB, em vez da localização habitual de BB no lado oposto (ânodo).⁽⁵⁴⁾ No entanto, a eletroforese apresenta várias desvantagens, tais como^(13,52,54): a macro-CK pode ser falsamente incluída na CK-MB, mesmo na eletroforese de leitura automática densitométrica ou quando o técnico, não examina com cuidado o padrão, antes de quantificar manualmente as principais frações isoenzimáticas;⁽⁵⁴⁾ longo tempo de processamento da técnica, sendo necessárias várias horas para completar a análise e obter os resultados; limite mínimo de deteção desfavorável, conduzindo a baixa sensibilidade que apenas é melhorada com o acumular da enzima na circulação sanguínea. Por estas razões, esta técnica acarretou implicações sérias no diagnóstico de EM.⁽⁵²⁾

Outras isoenzimas variantes da CK, além da “macro-CK”, têm sido descritas. A variante mais bem caracterizada é uma variante macromolecular de isoenzima da CK derivada das

mitocôndrias (CK mitocondrial ou macro CK-tipo 2) que, na eletroforese, migra para o cátodo em relação à isoenzima MM. A presença desta variante foi descrita em 0,8 a 2,6% dos doentes nos quais se fizeram testes para CK-MB, tendo sido mais frequente em doentes com cancro. Para além das variantes isoenzimáticas da CK, existe outra enzima denominada “adenilato-cinase”, encontrada nos eritrócitos e noutros tecidos, que migra eletroforeticamente na mesma área da CK mitocondrial. Amostras hemolisadas podem conter níveis aumentados desta enzima.⁽⁵⁴⁾

Um outro método para fracionamento das isoenzimas da CK é a cromatografia em coluna. A exatidão desta técnica depende, em certa medida, do método empregado. A principal desvantagem observada em *kits* reside na tendência de parte da isoenzima MM ser eluída com a fração MB, se o valor da fração MM estiver acentuadamente aumentado. Além disso, a “macro-CK” pode ser eluída com a fração MB produzindo falsos aumentos dos valores de MB. A presença de “macro-CK” verifica-se em cerca de 1% de todos os testes da isoenzima CK-MB.⁽⁵⁴⁾

Mais tarde, desenvolveram-se métodos de execução mais rápida baseados na atividade enzimática inibitória com anticorpos específicos para a subunidade M das enzimas CK-MB e CK-MM. A atividade enzimática da subunidade B mantém-se funcional. Por isso, a atividade da CK, após a imunoinibição das subunidades M, bloqueia toda a atividade da isoenzima CK-MM e permite a medição da atividade da CK-MB através da atividade da subunidade B. No entanto, estes métodos acabam por medir também a atividade da CK-BB, uma vez que não contêm subunidades M, bem como também torna possível a deteção da “macro-CK”, o que conduz a possíveis falsos positivos. Tal como no caso da eletroforese, a imunoinibição depende da atividade funcional intacta da CK-MB.^(52,54)

Os ensaios de imunoinibição foram substituídos, mais recentemente, por técnicas que não dependem da atividade enzimática.^(14,15)

Os imunoensaios de CK-MB massa trouxeram várias vantagens: menor tempo de processamento da técnica e maior sensibilidade para o diagnóstico da necrose do miocárdio que os testes de atividade.^(13,14,23,52) A rápida disponibilidade dos resultados permite melhorar os tempos de intervenção, reduzindo o tempo de permanência nas unidades coronárias.⁽⁵²⁾

O índice relativo calculado pela razão CK-MB massa/CK total pode ajudar a diferenciar elevações que são falsos positivos libertados pelo músculo-esquelético. Uma razão inferior a três é consistente com uma situação derivada do músculo-esquelético, enquanto que razões superiores a cinco são indicativas de eventos de origem cardíaca. (14,23)

Valores de Referência

Em condições normais, os níveis de CK-MB são inferiores a 5% da atividade da CK total ou inferiores a 5 mg/L para ensaios da CK-MB massa. (15)

Isoformas CK-MB e CK-MM

Constata-se que cada uma das três isoenzimas da CK contém isoformas. A isoforma da CK-MM no miocárdio é conhecida como MM3; quando a MM3 é libertada na corrente sanguínea durante a lesão do miocárdio, a enzima carboxipeptidase N presente no soro converte a isoforma MM3 em isoforma MM2, por clivagem do terminal lisina. Posteriormente, a MM2 é convertida em MM1. A observação de uma relação MM3/MM1 superior a 1,0 sugere a ocorrência de lesão do miocárdio ou do músculo-esquelético. A relação é considerada anormal dentro de 2-4 horas, ou até antes, após o início do EM e atinge um pico antes das isoformas individuais ou da CK-MB. Foi constatada a elevação da relação MM3/MM1 em 90% dos doentes com EM dentro de 6-9 horas, após o início dos sintomas, enquanto que 79% dos doentes apresentaram níveis elevados de CK-MB no mesmo intervalo de tempo. (52,54)

A isoenzima CK-MB possui apenas duas isoformas: a MB2 específica de tecidos e a forma de origem sérica MB1, produzida pela ação da carboxipeptidase N do soro sobre a MB2 libertada no sangue. A relação MB2/MB1 torna-se uniformemente elevada antes da elevação de qualquer isoforma isoladamente ou antes do aumento da CK-MB. A obtenção de uma relação MB2/MB1 superior a 1,0 sugere a ocorrência de lesão aguda do miocárdio. Verifica-se o aumento da relação em quase 60-67% dos doentes com EM dentro de 2-4 horas, após o início dos sintomas, e em 75-92% dos doentes dentro de 4-6 horas. (52,54)

A especificidade das isoformas da MB para o miocárdio é muito maior do que a das isoformas da MM ou da mioglobina. Conforme observado na CK-MB, as isoformas da

MB ou a sua relação podem sofrer elevação em consequência de lesão do músculo-esquelético ser grave ou moderadamente grave.⁽⁵⁴⁾

A tabela que se segue apresenta os valores para a sensibilidade e especificidade da CK-MB (e isoformas) conforme o método de quantificação. (Tabela 2.5)

Tabela 2.5 - Performance da CK-MB conforme o método de dosagem. (Adaptado de *Robinson, 1999*)

	CK-MB massa	Atividade CK-MB	Subunidade
Exemplo	Imunoensaio	Eletroforese	Isoformas
Valor Cutoff	7 (µg/L)	10U/L	1IU/L
EM	11,7 (5,3-31,7)	7(4-12)	2,6 IU/L
Tempo para exceder os valores do cutoff (h) – EM	12 (10,5 – 14,25)	12,25 (11-14,25)	4-8
Tempo para regressar a valores normais (h)	74 (50-80)	53 (36-76)	24-48
2-4 h após DP			
Sensibilidade (%)	57 (0,48-0,66)	32 (0,24-0,4)	56
Especificidade (%)	95 (0,91-0,99)	92 (0,87-0,97)	
4-6 h após DP			
Sensibilidade (%)	58	48,2-50	95,7
Especificidade (%)	94 (83-96)	94	93,9
6-8 h após DP			
Sensibilidade (%)	72	50-71	100
Especificidade (%)	89	89	93
8-10 h após DP			
Sensibilidade (%)	95	70-90	100
Especificidade (%)	76	81	
10-12 h após DP			
Sensibilidade (%)	100	100	100
Especificidade (%)	75	83	

DP: dor no peito

Troponinas

Estrutura e Funções

As troponinas são proteínas que intervêm na regulação da contração muscular, tanto no músculo estriado como no cardíaco. A interação entre a actina e a miosina responsável pela contração muscular é regulada pelas modificações da concentração intercelular de cálcio e dependente de um complexo proteico associado a um filamento de actina, o complexo troponina-tropomiosina.⁽¹⁸⁾ Neste complexo, um dímero de tropomiosina está associado a um heterotrímero formado por três moléculas diferentes de troponina: a troponina C (componente de ligação ao cálcio), troponina I (componente inibitório) e troponina T (componente de ligação à tropomiosina). A troponina C não tem utilidade

como biomarcador cardíaco uma vez que não é específico do tecido cardíaco. (15,23,29,50)
(Figura 2.5).

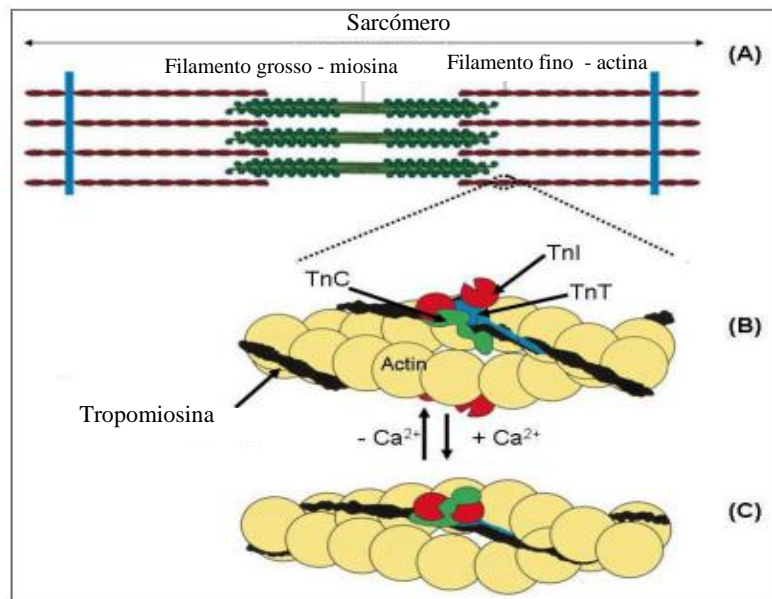


Figura 2.5 - (A) Anatomia do sarcômero; (B) Estrutura do complexo troponina-tropomiosina: a troponina T que se liga à tropomiosina, a troponina C que se liga ao cálcio e a troponina I que funciona como inibidor da ATPase dependente de Magnésio. Esta etapa mostra-nos a fase de relaxamento muscular; (C) Durante a contração muscular, o cálcio é libertado dos túbulos t e liga-se à troponina C originando a alteração conformacional. (Adaptado de Gaze, 2012)

A tabela que se segue resume algumas das características das troponinas (Tabela 2.6).

Tabela 2.6 - Características das troponinas. (Adaptado de Lakshmanadoss, 2012 e Beaudoux, 2008)

Caraterísticas	Troponina C	Troponina I	Troponina T
Peso molecular	18 KD	24-27 KD	37-39 KD
Nº de aminoácidos		209	287
Função	Subunidade de ligação ao cálcio	Subunidade de inibição do complexo actomiosina-ATP	Ligação do complexo de troponina à cadeia de tropomiosina
Cardioespecificidade	Não	Sim	Sim

No genoma humano, oito genes codificam a expressão das troponinas no músculo-esquelético e no músculo cardíaco. Os genes TNNI3 e TNNT2 codificam as isoformas cardíacas troponinas I (cTnI) e troponinas T (cTnT), respetivamente, presentes unicamente no músculo cardíaco do adulto.^(13,18) As troponinas cardíacas têm diferentes

sequências de aminoácidos codificadas por diferentes genes. A cTnI tem um resíduo de 31 aminoácidos adicionais “pós-tradução” no terminal amino em comparação com a TnI do músculo- esquelético, conferindo-lhe especificidade cardíaca única. A cTnT é também codificada por um gene diferente do que codifica as isoformas do músculo-esquelético: um resíduo terminal de 11 aminoácidos confere a especificidade cardíaca.^(13,29,50) Este facto confere às troponinas a qualidade de marcador cardíaco com o máximo de cardioespecificidade, ao contrário da CK, CK-MB e mioglobina que também são co-expressas no tecido muscular esquelético e cardíaco. Alguns anticorpos específicos para as cTn têm sido patenteados de forma a permitir o seu reconhecimento através de imunoenaios específicos, permitindo diagnosticar a lesão miocárdica mesmo em presença de lesão músculo-esquelética concomitante.^(29,50)

Por estas razões, o doseamento das troponinas cardíacas é considerado o teste *Gold Standard* para a necrose do miocárdio globalmente aceite pelas ESC/AHA na definição de EM. De facto, em setembro de 2000, os critérios que definem o EM foram revistos e publicados num documento de consenso entre a Sociedade Europeia de Cardiologia e o Colégio Americano de Cardiologia (ESC/ACC).^(9,10,29,47) Até então, o diagnóstico de EM era estabelecido, se estivessem presentes, pelo menos, duas das seguintes características: sintomas típicos de isquemia (desconforto torácico, por exemplo), aumentos de enzimas e padrão eletrocardiográfico típico com aparecimento de ondas Q. No entanto, verificou-se, tendo em conta a atual prática clínica, sistemas de cuidados de saúde, estudos epidemiológicos e ensaios clínicos, que era necessário uma definição mais precisa de EM. Além disso, o aparecimento de biomarcadores serológicos sensíveis e específicos, bem como técnicas de imagem mais precisas, contribuíram para a necessidade de reavaliar a definição de EM.⁽⁴⁷⁾

Segundo a “nova” definição de EM qualquer um dos seguintes é critério para estabelecer o diagnóstico de EM agudo, envolvente ou recente^(42,47):

1. Típico aumento e declínio gradual (troponinas) ou aumento abrupto e queda (CK-MB) de biomarcadores de necrose do miocárdio com pelo menos um dos seguintes:
 - a. Sintomas de isquemia ou
 - b. Desenvolvimento de ondas Q patológicas no ECG ou

- c. Alterações no ECG indicativas de isquemia (supradesnivelamento ou depressão do segmento ST) ou
- d. Identificação do trombo intracoronário (angioplastia coronária)

2. Achados patológicos de EM

Em termos de cinética, as troponinas cardíacas (cTn) têm um comportamento semelhante à CK-MB: começam a aumentar no sangue após 4-6 horas após o enfarte com um pico entre as 12-24 horas mas podem levar semanas até voltarem ao normal, habitualmente 7 a 14 dias, enquanto a CK-MB retoma os níveis normais mais cedo.^(10,13,23,54) (Figura 2.6)

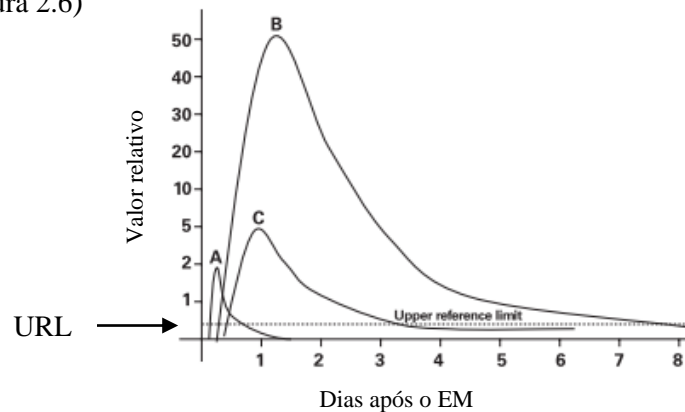


Figura 2.6 - Cinética dos marcadores cardíacos. A - mioglobina; B - Troponina; C - CK-MB; EM: enfarte do miocárdio; URL: limite de referência superior (Adaptado de Lewandroski et al, 2002)

Comparando agora a cinética da troponina T (cTnT) com a da troponina I (cTnI), verifica-se que ambas exibem um comportamento semelhante exceto que a cTnI retorna mais rapidamente aos níveis de referência.^(10,13,15,54) (Figura 2.7)

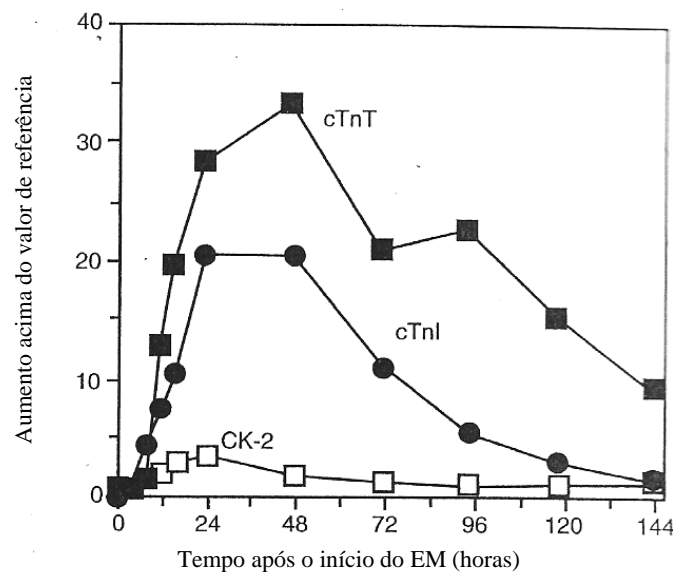


Figura 2.7 - Cinética da troponina cardíaca I (cTnI) e troponina cardíaca T (cTnT) comparada com CK-2 (CK-MB), após enfarte do miocárdio (EM). (Adaptado de Burtis et al, 2006)

As troponinas estão localizadas principalmente nas miofibrilhas (94 a 97%), tendo apenas uma pequena fração citoplasmática (3 a 6%).^(13,15,49)

Este facto ajuda-nos a entender a dupla janela de diagnóstico das troponinas: a pequena fração dissolvida no citoplasma dos cardiomiócitos, é relativamente precoce (>6 horas) na deteção da lesão celular; a principal fração que está ligada ao complexo de tropomiosina apenas aparece no plasma depois da lesão celular irreversível, ou seja, após 40 horas da ocorrência do evento cardíaco, permanece elevada até 10-15 dias após a lesão, sendo usada como marcador tardio para a necrose do miocárdio.^(15,29) (Figura 2.8)

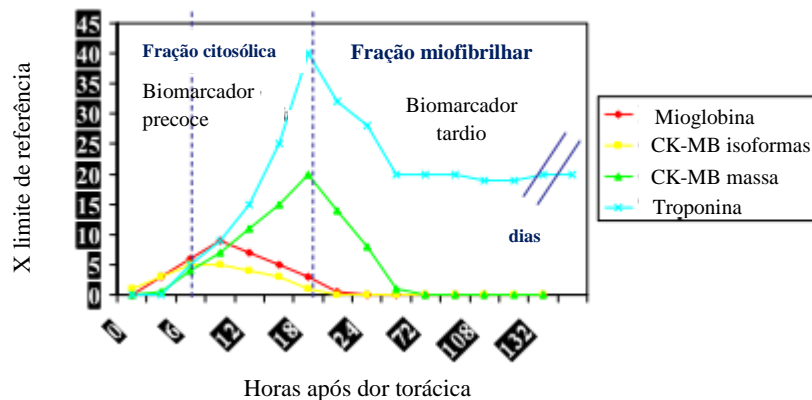


Figura 2.8 - Níveis plasmáticos dos marcadores cardíacos após processo isquémico: dupla janela de diagnóstico da Troponina. (Adaptado de *Brizzio, 2012*)

Sensibilidade e Especificidade

As cTn são sensíveis, como a CK-MB nas primeiras 48 horas após os EM. A sua sensibilidade é de cerca de 33% nas 0-2 horas, 50% entre as 2-4 horas, 75% nas 4-8 horas e, aproximadamente, 100% a partir das 8 horas, após o início da dor torácica. A especificidade é perto de 100%.^(10,15,23) Níveis aumentados das cTn podem estar ligados a outras situações clínicas, para além das SCA. As seguintes situações podem provocar aumentos das cTn, mesmo em ausência da oclusão trombótica de uma artéria coronária e as *guidelines* ESC/ACC recomendam que, na falta de evidência clínica de isquemia, sejam procuradas outras causas para a necrose do miocárdio, nomeadamente⁽²³⁾:

- Taqui ou bradiarritmias;
- Doentes em estado crítico, especialmente com diabetes, falência respiratória ou sépsis;
- Cardiomiopatia hipertrófica
- Vasoespasmo coronário
- Doença neurológica aguda, incluindo AVC ou hemorragia subaracnóideia

- Contusão cardíaca ou trauma incluindo cirurgia (entre outras)
- Rabdomiólise com lesão cardíaca.
- Insuficiência cardíaca congestiva (aguda ou crónica)
- Embolismo pulmonar
- Insuficiência renal
- Dissecção da aorta
- Cardiomiopatia *Takotsubo*
- Doenças infiltrativas (amiloidose, hemocromatose, ...)
- Doenças inflamatórias (miocardite, por exemplo)
- Toxicidade por fármacos ou toxinas (5-fluorouracilo, herceptina,...)
- Queimaduras, especialmente se afetar mais de 25% da superfície corporal

Comparação, com outros marcadores cardíacos

A mioglobina e a CK-MB estão localizadas no citoplasma, o que favorece a rápida saída da molécula para fora da célula e, conseqüentemente, o seu aparecimento precoce na circulação sistémica. As cTn têm uma pequena fração citoplasmática (6% para a cTnT e 3% para a cTnI) mas a maior parte encontra-se dentro do tecido muscular cardíaco como parte dos complexos de tropomiosina. Por outro lado, a mioglobina e a CK-MB são expressas, tanto no músculo cardíaco como no músculo esquelético, o que levanta problemas de falta de cardioespecificidade (falsos positivos), não se verificando o mesmo com as troponinas que são, por definição, 100% cardioespecíficas.^(15,29) A CK-MB, apesar de ser uma enzima citosólica, tem um peso molecular mais elevado que a mioglobina e, por isso, leva mais tempo a aparecer e desaparecer no plasma. As troponinas, devido à sua dupla localização, têm uma janela de diagnóstico, mais ampla (desde as 6 horas até aos 10-12 dias). Em contraste com outros marcadores, as cTn estão praticamente ausentes no soro normal.⁽⁵⁰⁾ Este facto permite que a libertação de cTn, ainda que em pequenas quantidades, aumente a concentração deste marcador na circulação acima do valor de referência para indivíduos saudáveis, contribuindo para uma sensibilidade superior comparado com outros marcadores.⁽¹⁵⁾

Devido à sua excelente cardioespecificidade e sensibilidade das cTn para a deteção da necrose miocárdica, associadas à ampla janela de diagnóstico, as cTn têm revolucionado nos últimos anos a abordagem de doentes com SCA e muitos estudos têm demonstrado a sua utilidade no diagnóstico e prognóstico (estratificação de risco) desta patologia.^(13-15,18,29,60-64)

A Tabela 2.7 seguinte resume algumas das características de alguns marcadores cardíacos.

Tabela 2.7 - Características dos marcadores cardíacos atuais. (Adaptado de Brizzio, 2012)

Marcador Cardíaco	Localização Tecidual	Peso Molecular	Localização Celular	Aumento após EM (h)	Pico (h)	Retoma aos valores normais (h)
CK-MB isoformas	Músculo cardíaco	86,000	Citosol	2-4	6-8	18-24
Mioglobina	Músculo cardíaco e esquelético	17,800	Citosol	2-3	6-9	18-24
CK-MB	Músculo cardíaco e esquelético	86,000	Citosol	4-6	10-18	1-2 dias
Troponina I	Músculo cardíaco	23,500	3% citosol 97% complexo tropomiosina	>6	10-24	5-10 dias
Troponina T	Músculo cardíaco	37,000	6% citosol 94% complexo tropomiosina	>6	10-24	5-12 dias

Técnicas de Quantificação e plataformas *point of care testing* (POCT)

Uma vez que as isoformas cTnI e cTnT do músculo esquelético e cardíaco são distintas, as isoformas do músculo esquelético não são detetadas pelos testes baseados em anticorpos monoclonais. A especificidade das isoformas cardíacas é a base para a utilidade clínica no doseamento das cTn. ^(23,50)

O primeiro teste ELISA para doseamento das troponinas foi descrito em 1992 por Bodor *et al* ⁽⁶⁵⁾ com uma imprecisão analítica (CV) entre 11% e 21% e limite de referência superior (URL) de 3,1 µg/L e uma reatividade cruzada de < 0,1%. No entanto, não foi passível de aplicação clínica pelo longo tempo de execução (3,5 horas). ^(14,65) Nos últimos 15 anos vários fabricantes têm desenvolvido imunoenaios baseados em anticorpos monoclonais para o doseamento de cTn no soro. O tempo de execução destes testes varia entre os 5 e os 30 minutos. ^(13,14) O método ELISA é uma técnica imunológica quantitativa na qual a reação Antígeno-Anticorpo (Ag-Ac) é monitorizada por medições enzimáticas. É utilizada uma enzima para detetar a ligação Ag-Ac. Esta enzima converte um substrato num produto colorido, indicando a presença da ligação Ag-Ac. ⁽¹⁵⁾

Os ensaios contemporâneos das troponinas são bastante sensíveis e permitem detectar pequenas quantidades de necrose do miocárdio (<1g). As *guidelines* ESC/ACC recomendam que o diagnóstico do EM seja baseado nos níveis de troponina em excesso no 99º percentil do valor de referência. Uma vez que os níveis de cTn são indetetáveis na maior parte dos indivíduos, o 99º percentil é muito baixo (0,04 a 0,5 µg/L)^(23,50). No entanto, a maior parte dos testes são imprecisos a este nível e, por isso, é recomendado que a definição de EM seja aumentada até ao valor no qual o ensaio específico tem um CV ≤10%.^(23,42)

Vários testes de doseamento das cTn têm sido aprovados pela *Food and Drug Administration* (FDA). Na prática existem dois obstáculos que limitam a comparação entre ensaios diferentes. Em primeiro lugar, não há atualmente nenhum material de referência primário disponível para que os fabricantes façam a calibração dos seus testes. Em segundo lugar, são reconhecidos epítomos diferentes devido à utilização de anticorpos diferentes.^(13,14)

A cTnI está presente em circulação em 3 formas⁽¹⁴⁾ (Figura 2.9):

- Livre
- Ligada a complexo binário: cTnI-cTnC (complexo IC)
- Ligada a complexo ternário: cTnT-cTnI-cTnC (complexo TIC)

Assim sendo, ensaios de diferentes fabricantes não produzem resultados equivalentes de concentração e não podem nem devem ser feitas comparações de concentrações absolutas de cTnI em estudos clínicos.⁽¹⁴⁾

As diversas adaptações de cTnT resultaram na aprovação pela FDA de ensaios de 3ª geração: dois anticorpos monoclonais anti anticorpos cTnT. Desta forma, as TnT musculo-esquelética deixaram de ser potenciais interferentes como acontecia com os ensaios de 1ª geração (ELISA).^(13,14) Contrariamente à cTnI não existe viés de padronização porque cTnT porque anticorpos semelhantes (M11,M7) são usados tanto em laboratórios centrais como nas plataformas POCT.^(13,14)

Em 2001 a Comissão para a Padronização de Marcadores de Lesão Cardíaca (C-SMCD) da Federação Internacional de Química Clínica e Medicina Laboratorial (IFCC) estabeleceu especificações de qualidade⁽⁶⁶⁾ para testes laboratoriais com troponinas cardíacas dirigidas tanto a fabricantes como aos laboratórios que usam estes testes. O

objetivo é estabelecer critérios uniformes de forma que todos os ensaios possam ser avaliados objetivamente em termos de performance e qualidade analítica.^(13,14)

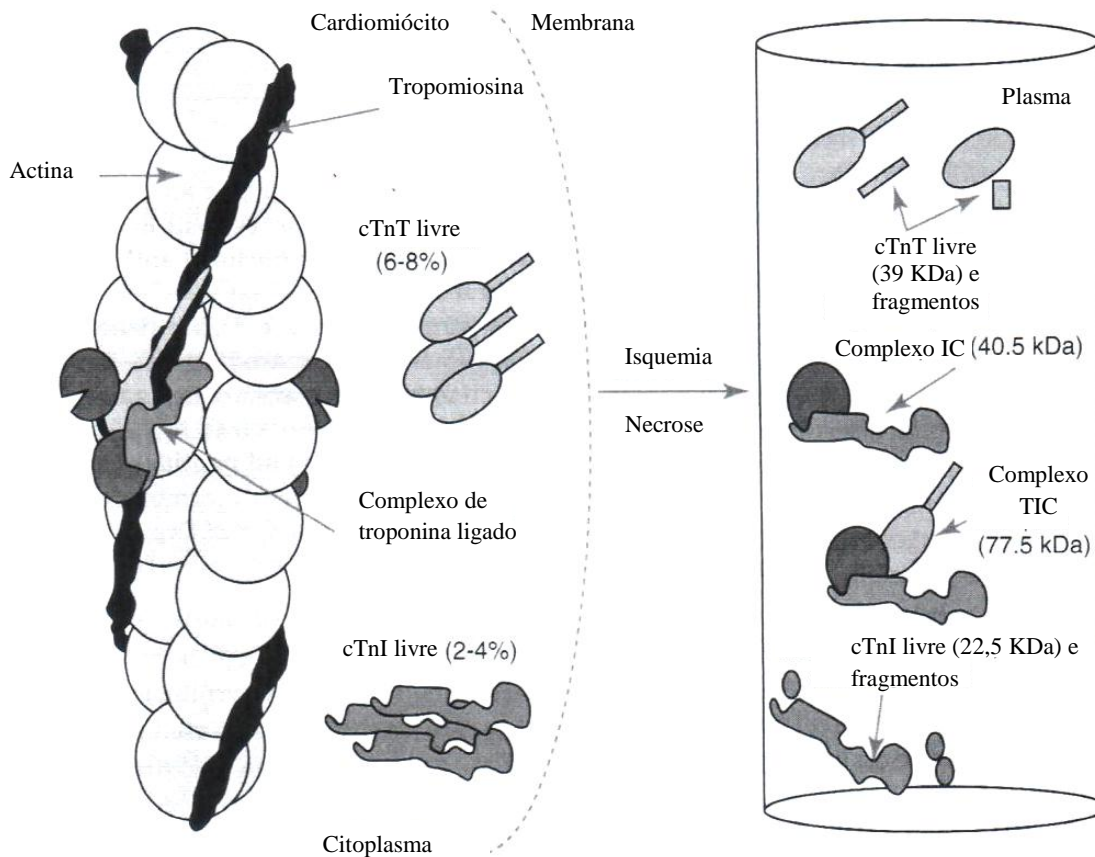


Figura 2.9 - Estrutura do complexo troponina e formas libertadas após necrose miocárdica. cTnI: troponina cardíaca I; cTnT: troponina cardíaca T; cTnC: troponina cardíaca C; Complexo TIC: cTnT-cTnI-cTnC; complexo IC: cTnI-cTnC; (Adaptado de *Burtis et al, 2012*)

Assim, a especificidade do anticorpo (que reconhece o epítipo) tem de ser delineada. Os epítipos localizados na parte estável da molécula de cTnI devem ser a prioridade. Os testes têm ainda de indicar claramente que diferentes formas de cTnI (complexo binário ou terciário,...) são reconhecidas de forma equimolar pelos anticorpos usados.⁽⁶⁶⁾

Por outro lado, o material usado para calibrar os testes de cTn tem de ser registado e comunicado. Atualmente, assiste-se à falta de padronização entre ensaios da cTnI devido ao uso de diferentes anticorpos. No entanto, para cTnT, uma vez que só existe um fabricante (*Roche Diagnostics*), a padronização entre ensaios é consistente.⁽⁶⁶⁾

Por último, os testes têm de descrever os métodos usados para obter o limite mínimo de detecção e a imprecisão total, referindo a que concentração é que $CV \leq 10\%$ é atingido. Também os fatores pré-analíticos, tais como os efeitos do tempo de armazenamento, a influência dos tubos de plástico ou vidro e do uso de anticoagulantes devem ser reportados.⁽⁶⁶⁾

Um exemplo dos ensaios disponíveis para o doseamento da troponina I é um imunoensaio (da *Abbott*) de micropartículas por quimioluminescência para a determinação quantitativa em soro e plasma. Este teste executa-se em dois passos: primeiro, a amostra, o diluente de ensaio e as micropartículas paramagnéticas revestidas de anticorpos anti-troponina I são combinados. A troponina I presente na amostra liga-se às micropartículas revestidas de anticorpos anti-troponina I. Após a incubação e lavagem, a solução pré-ativadora e a solução ativadora são adicionadas à mistura de reação. A reação quimioluminescente resultante é medida em unidades de luz relativas (RLUs). Existe uma relação direta entre a quantidade de troponina I na amostra e as RLUs detetadas pelo sistema ótico.⁽⁶⁷⁾

Mais recentemente, as plataformas POCT disponibilizam os resultados da análise de uma forma rápida (aproximadamente 15 minutos) permitindo encurtar tempos de espera, proporcionar intervenções mais eficazes, fazendo com que estes instrumentos sejam atrativos para a medicina de emergência.^(12,23,58,68) A implementação de dispositivos de doseamento *point of care* (POC) são uma recomendação da AHA e da NACB que consideram que instituições que não sejam capazes de disponibilizar os resultados do doseamento dos marcadores cardíacos numa hora devem implementar os testes POC.^(58,69)

As *guidelines* da NACB referem onze orientações que devem ser tidas em conta pelas unidades de emergência médica, entre elas o tempo de retorno do resultado (*turnaround time* – TAT) que deve ser no máximo de 1 hora, sendo que o ideal é de 30 minutos. O TAT engloba o tempo desde a colheita do sangue até a comunicação dos resultados da análise.^(14,69)

Teste de troponina altamente sensível (hs troponina)

As *guidelines* da ESC, em 2007, aquando da segunda definição universal de enfarte do miocárdio, afirmam que, em presença de evidência clínica (sintomas ou alterações no ECG), as concentrações de troponina acima do 99º percentil do intervalo de referência com coeficiente de variação inferior a 10%, devem ser consideradas como indicativas de necrose do miocárdio. Se o doseamento de troponina não estiver disponível, deve substituir-se pela CK-MB massa, em alternativa. A colheita do sangue deve ser efetuada ao doente no momento da admissão e novamente entre as 6 e as 9 horas.^(29,42) Estas *guidelines* estão em concordância com as últimas recomendações analíticas para o uso da troponina, publicadas pela Academia Nacional de Bioquímica Clínica (NACB).⁽²³⁾

Estas recomendações induziram os fabricantes de métodos de quantificação a desenvolverem métodos de doseamento da troponina com maior fiabilidade, segurança e confiança, provocando o aparecimento de uma nova geração de imunoensaios: testes da troponina de “alta sensibilidade” ou testes “ultra sensíveis”.^(10,23,70) Estes testes laboratoriais detetam a cTn com elevada sensibilidade analítica e têm como objetivo diagnosticar precocemente e com fiabilidade a necrose do miocárdio e permitir a estratificação do risco.^(10,23) Com o desenvolvimento destes novos testes de troponinas (hs troponina), os limites de deteção são mais baixos e permitem avaliar as troponinas com CV igual ou inferior a 10% no percentil 99º de uma população de referência saudável.⁽⁷¹⁾

Estes ensaios altamente sensíveis afetam a interpretação clínica dos resultados, com duas características fundamentais: deteção de cTn em indivíduos saudáveis (maior número de positivos fora do âmbito da SCA) e dificuldade no estabelecimento de um valor *cutoff*. No entanto, dentro da população com SCA torna possível diagnosticar o EM mais cedo, reduzindo a morbilidade, por permitir uma revascularização mais cedo, e o início de um tratamento adequado.^(23,49,70,71)

A Figura 2.10 representa um esquema para a utilização da hs-troponina no diagnóstico precoce de EM, baseado num consenso derivado de dados da literatura e publicado pela ESC em 2012.

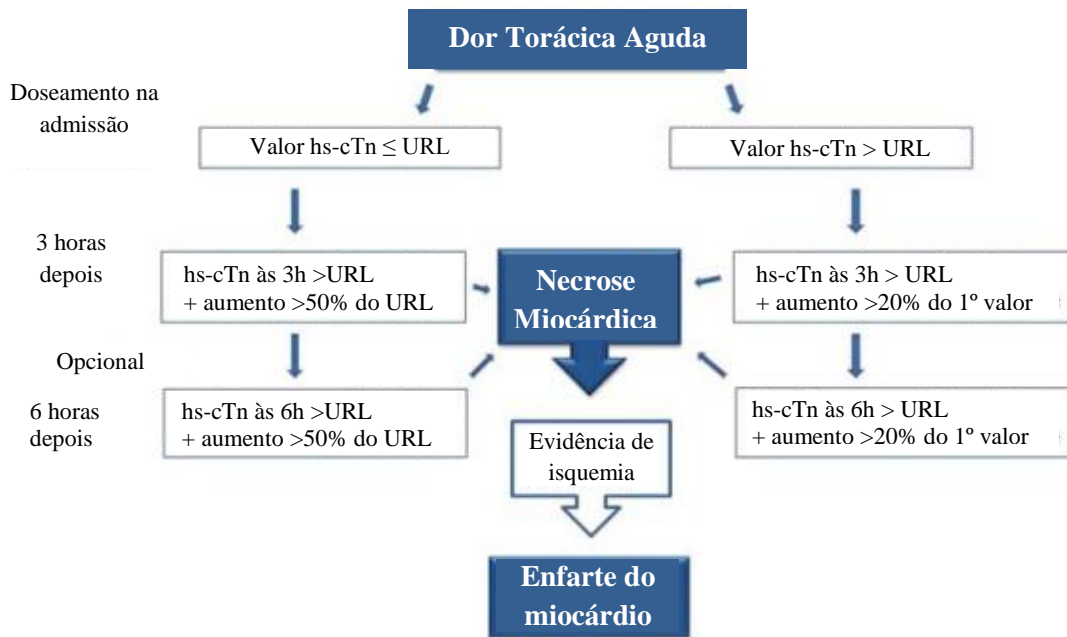


Figura 2.10 - Esquema modelo para rápida abordagem no diagnóstico de enfarte do miocárdio utilizando os testes de elevada sensibilidade das troponinas. Deve ter-se em conta que o algoritmo estabelecido pode variar de acordo com o teste escolhido. URL: limite de referência superior; hs-troponin: troponina altamente sensível (Adaptado de Thygesen et al, 2012)

A abordagem apresentada garante, pelo menos, que as alterações verificadas nas concentrações de cTn sejam superiores à variação analítica. É importante notar que as alterações de hs-troponina ao longo de um período de 3-6 horas em doentes com EM podem ser de <20%.⁽⁶³⁾

De acordo com a definição universal de EM são necessárias pelo menos duas medições de hs-troponina para a verificação do padrão de cinética.^(42,63)

De acordo com a recente orientação na gestão de SCA, no caso de testes de hs-troponina, as amostras de sangue devem ser obtidas aquando da apresentação no serviço de urgência e 3 horas após. Dada a escassez de dados, recomenda-se a colheita de sangue adicional em doentes com fortes suspeitas de EM mas sem aumento significativo de hs-troponina após 3 horas.⁽⁷²⁾

Convém lembrar que a troponina é um marcador de necrose miocárdica e não um marcador específico de EM. Este só pode ser diagnosticado perante aumento ou diminuição de cTn, juntamente com sintomas caraterísticos (apresentados em 1.7.1), e/ou alterações do eletrocardiograma indicativas de isquemia (discutido em 1.7.2). É por isso necessário considerar outras causas de necrose miocárdica, perante um resultado de hs-cTn elevado.

Interesse clínico no prognóstico

Para além da utilidade das troponinas no diagnóstico, níveis elevados de troponinas podem identificar doentes em alto risco para eventos cardíacos adversos. Dados de meta-análise indicam que um nível elevado de troponinas em doentes sem elevação do segmento ST, está associado com um aumento da taxa de mortalidade de perto de 4 vezes. Em doentes com elevação do segmento ST, que foram tratados para terapia trombolítica, os níveis iniciais das troponinas na admissão estão correlacionados com a mortalidade às 6 semanas. Outros estudos revelam que um nível elevado de troponinas é um fator preditor independente de mortalidade, mesmo em doentes com dor torácica e EMCS DST que são escolhidos para terapia de reperfusão. ⁽²³⁾

Valores de Referência

Uma vez que em condições normais, indivíduos saudáveis têm níveis indetetáveis de troponinas, a margem de referência não se encontra bem estabelecida. O 99º percentil para a população saudável é cerca de 0,04 ng/ml (μ L), dependendo do teste utilizado.⁽⁵⁰⁾ Na literatura, encontra-se para cada fabricante valores diferentes para o percentil 99º. A falta de padronização dos testes de troponinas e as diferenças no reconhecimento do epítipo do anticorpo entre os vários ensaios faz com que surjam valores substancialmente discrepantes. Além disso é comum encontrar valores 1,2 a 2,5 vezes superiores para os homens e 1,1 a 2,8 vezes superior para os afroamericanos em relação aos caucasianos.^(13,15)

3 Novos Biomarcadores

Como referido no capítulo anterior, as troponinas cardíacas (cTnT e cTnI) são atualmente o biomarcador preferencial no diagnóstico do EM. No entanto, devido ao seu aparecimento tardio na circulação, continua a haver necessidade de encontrar um biomarcador mais fidedigno.^(73,74)

O diagnóstico da isquemia cardíaca e a deteção precoce do EM continua subótima e permanece como questão inquietante da emergência médica.⁽⁷⁵⁻⁷⁸⁾ A troponina I não é segura a excluir com segurança o EM sem repetidas medições negativas para além das 4-6 horas e a CK-MB tem como principal limitação a especificidade.⁽⁷⁶⁾

Por este motivo, a comunidade científica tem-se esforçado por encontrar biomarcadores com as características ideais para que tenham utilidade clínica do diagnóstico e prognóstico dos eventos de SCA.^(58,79) Neste capítulo são descritos alguns dos mais importantes “novos biomarcadores”, sendo que estes estão agrupados em marcadores de isquemia, necrose e de inflamação.

3.1 Marcadores de Isquemia

Albumina modificada por isquemia (IMA)

A albumina modificada por isquemia (IMA) é o único marcador de isquemia aprovado pela FDA em 2003.^(10,13,15,23,80–82) Ao contrário do que acontece com outros biomarcadores, não é uma proteína libertada pelo tecido miocárdico lesionado.⁽⁵⁰⁾

Num episódio de isquemia ocorre, como referido anteriormente, redução do fornecimento de oxigénio causando acidose e formação de radicais livres. Os íões zinco e cobre, normalmente ligados a proteínas no plasma, são libertados dos sítios de ligação às proteínas para circularem na forma livre (não ligada). Na albumina, o local de ligação aos metais de transição (cobre, cobalto, níquel, ...) é o resíduo N-terminal. No entanto, o N-terminal é suscetível a alterações bioquímicas. Após um período de isquemia, verifica-se uma diminuição da capacidade da albumina se ligar ao cobalto.^{(10,49,77,78,82–}

⁸⁴⁾ A Figura 3.1 esquematiza o mecanismo da formação da albumina modificada por isquemia.

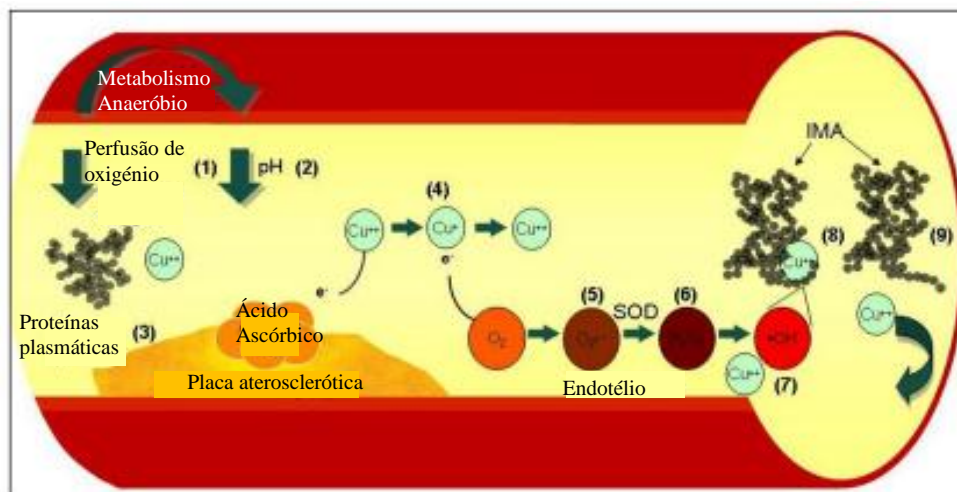


Figura 3.1 - Mecanismo de formação da albumina modificada por isquemia. A redução do fluxo sanguíneo origina em hipoxia (1), resultando em diminuição do pH (2) O cobre (Cu^{++}) é libertado das proteínas plasmáticas (3). Na presença de ácido ascórbico, Cu^{++} é convertido a Cu^{+} . Cu^{+} reage com O_2 para formar $\text{O}_2^{\cdot-}$ (5) A superóxido dismutase (SOD) atua neste último originando H_2O_2 (6) Na presença de metais origina-se OH^{\cdot} que altera os aminoácidos da região N-terminal da albumina (8) tornando-a incapaz de se ligar ao Cu^{++} (9) (Adaptado de Gaze, 2012)

Esta é a base do teste da albumina ligada ao cobalto (teste ACB[®]) para a IMA na avaliação da isquemia do miocárdio.^(23,49,77,83,85) Doentes sem isquemia têm mais sítios de ligação ao metal na albumina sérica do que doentes com isquemia.^(23,58,77,82,84,85) O teste mede a capacidade da albumina se ligar a uma quantidade conhecida de cobalto livre adicionado a uma amostra. É adicionado dititreiol (DTT), composto cromogénico, que se liga ao cobalto não ligado, permitindo ler a alteração colorimétrica espectrofotometricamente.^(23,49,50,77,85)

Cineticamente, verifica-se um aumento rápido de IMA no soro⁽⁴⁹⁾: apenas alguns minutos bastam (5 a 10)⁽⁸⁶⁾ para que apareçam alterações na albumina, permanecendo por 6 a 12 horas.^(50,77,80,84)

Gaze afirma que a utilização isolada da IMA no diagnóstico tem uma sensibilidade de 82% com 46% de especificidade se for medida nas primeiras três horas, após a apresentação no departamento de emergência.^(49,77) A combinação dos dados do ECG, cTnT (>0,05 µg/L) e IMA demonstra 95% de sensibilidade para o diagnóstico de SCA.^(49,77)

Vários estudos clínicos têm sido levados a cabo, com o objetivo de avaliar a utilidade da IMA, através do teste ACB[®], no diagnóstico da SCA.

Um estudo de 2003, publicado por *Sinha et al*, com 208 doentes recebidos num departamento de emergência, até às três horas após o início da dor torácica, comparou a performance clínica da IMA, sozinha e em combinação com cTn e ECG.⁽⁸⁵⁾ Verificou-se que, 65% dos doentes com AI com valores normais de cTn (*cutoff*=0,05 ng/ml), foram diagnosticados com SCA, onde apenas 32% foram diagnosticados com base na apresentação clínica e ECG, enquanto a IMA ajudou a diagnosticar 91% dos doentes. Neste estudo, a história clínica combinada com cTn identificou 53% dos doentes com SCA. Quando a IMA foi adicionada aos dados do ECG e cTn, a sensibilidade do diagnóstico aumentou para 90-95%.⁽⁸⁵⁾

Um outro estudo de *Roy et al*, em 2004, avaliou 131 doentes com sintomas suspeitos de SCA onde a IMA demonstrou uma sensibilidade de 75% e especificidade de 74,6% para um *cutoff* > 93,5 U/ml. Associando a IMA a doseamentos seriados da cTnT (6-12 h) a sensibilidade aumentou para 82,8% com uma especificidade de 74,6% e valor preditivo negativo (VPN) de 82%. No entanto, ao aplicar o *cutoff* sugerido pelo fabricante (85 U/ml) a sensibilidade melhorou (90,6%) mas a especificidade desceu para 49,3% com VPN de 84,6%. Em combinação com os doseamentos seriados da cTnT, a sensibilidade

aumentou para 92,2%, a especificidade manteve-se e o VPN foi de 86,8%. Este estudo concluiu ainda, através de uma análise de múltiplas variáveis, que as únicas variáveis independentes para a SCA são a idade (*Odds Ratio* (OR)=1,06), EM prévio (OR=3,9) e níveis de IMA >85 U/ml (OR=14,6). Estes resultados suportam a evidência de que a IMA é um marcador precoce de isquemia, cujo aumento no sangue se verifica antes de qualquer alteração nos valores das cTn, estando elevada em ausência de necrose, representando uma ferramenta útil no diagnóstico de doentes com SCA.⁽⁸³⁾

Em 2005, *Anwaruddin et al*, publicaram um estudo com 193 doentes com suspeita de SCA que concluiu que, a análise da IMA conjuntamente com a mioglobina, seguida de doseamentos seriados de cTnI é a estratégia ideal, oferecendo o mais alto valor de sensibilidade, especificidade e VPN.⁽⁷⁸⁾

A meta-análise de *Peacock et al* conclui que um resultado negativo do teste da IMA, dados do ECG não indicativos de eventos isquémicos, da troponina medida até às 3 horas após o início dos sintomas, tem uma boa sensibilidade (94%) e um elevado VPN (97%) para excluir a SCA.⁽⁸⁰⁾

No entanto, não é apenas no diagnóstico que a IMA tem demonstrado utilidade clínica. No prognóstico e estratificação de risco, também parece ser possível estabelecer-se uma correlação entre os níveis de IMA no sangue e a taxa de mortalidade. Num estudo com 208 doentes, um ano após o diagnóstico de SCA, os doentes com níveis superiores de IMA demonstraram uma desvantagem em termos de sobrevivência.⁽⁷⁷⁾ (Figura 3.2)

Também *Van Belle et al* concluíram que a concentração plasmática, medida nas primeiras 24 horas de admissão hospitalar, é uma forte variável independente para eventos cardíacos no próximo ano e pode ajudar a identificar doentes que necessitem de uma monitorização médica mais apertada, após a alta hospitalar.⁽⁸¹⁾

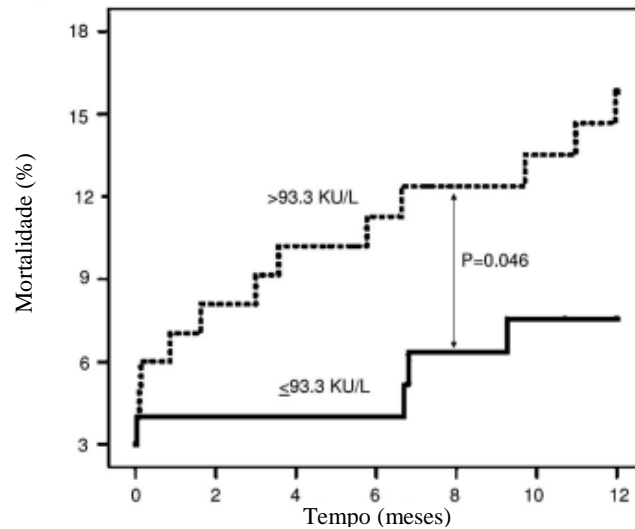


Figura 3.2 – Análise da sobrevivência em doentes estratificados pela IMA
(Adaptado de Gaze, 2009)

No entanto, este marcador demonstra falta de especificidade para o tecido cardíaco, podendo ocorrer elevações em várias condições não cardíacas, incluindo infecções, doenças auto-imunes, neoplasias, cirrose hepática, AVC isquêmico ou hemorrágico, doença renal, doença vascular periférica e politraumatismo. ^(23,49,77)

A literatura descreve a IMA como um marcador de elevado valor preditivo negativo (sobretudo se for associado ao ECG e cTn), mas fraco valor preditivo positivo. ^(13,15,18,50)

Técnicas de Quantificação

No teste ACB[®] (cujo princípio já foi explicado) são necessários 95 µL da amostra de soro do doente e 5 µL de cloreto de cobalto (CoII) que são incubados durante 5 minutos. Durante este período o Co(II) liga-se ao grupo N-terminal inalterado da albumina na amostra; a albumina cujo N-terminal está alterado como resultado do processo isquêmico tem uma menor capacidade de ligação. Após a incubação, adiciona-se 25 µL de DDT à mistura. O DDT forma um complexo colorido com o Co(II) não ligado. Este complexo é medido espectrofotometricamente a 500 nm. ⁽⁸⁵⁾

Valores de Referência

Valores de IMA >85 U/ml são considerados positivos para isquemia cardíaca. ⁽⁸⁵⁾

Ácidos gordos livres não ligados (uFFA)

Sob condições aeróbicas, os ácidos gordos livre (FFA) de longa cadeia não esterificados representam o principal recurso metabólico para o miocárdio, sendo responsável por praticamente 2/3 da formação do ATP, sendo a glucose responsável pelo restante 1/3. Os ácidos gordos de cadeia longa são esterificados com o glicerol ou não esterificados (FFA).^(23,87) A maioria dos ácidos gordos livres circulam ligados à albumina com apenas uma pequena percentagem a aparecer sob a forma de ácidos gordos livres não ligados (uFFA). O nível de FFA circulantes é limitado à disponibilidade dos sítios de ligação na albumina.⁽⁴⁹⁾ O mecanismo pelo qual os FFA são captados para os miócitos permanece por esclarecer, mas envolve difusão passiva ou transporte ativo mediado. No citoplasma, os FFA são ligados à proteína de ligação aos ácidos gordos (FABP) que, possivelmente, facilita o seu transporte para fora da membrana mitocondrial onde se tornam esterificados/ativados pela acil-CoA sintetase. Uma vez ativados, os ésteres de acil-CoA são diretamente β -oxidados, mas podem também ser armazenados como triglicéridos ou convertidos em fosfolípidos de membrana.⁽⁸⁷⁾ (Figura 3.3)

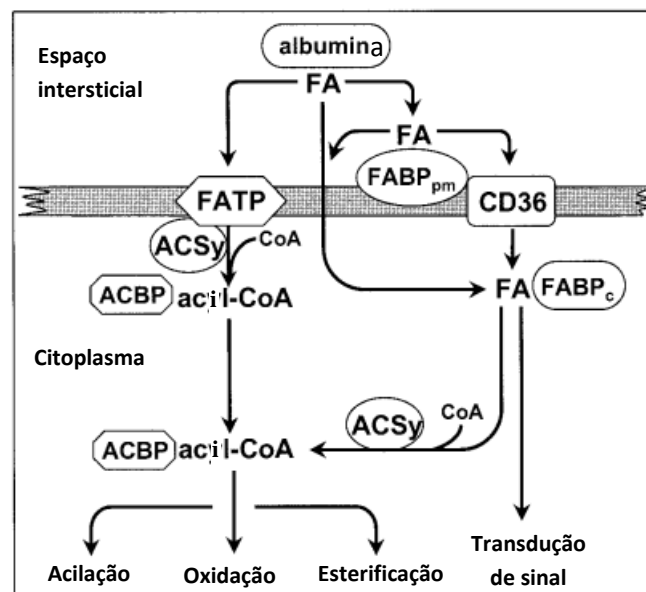


Figura 3.3 - Abordagem esquemática dos mecanismos moleculares do uptake celular e da utilização dos ácidos gordos de longa cadeia (FA). (Adaptado de Azzazy *et al*, 2006)

A isquemia do miocárdio dá origem a uma série de eventos celulares na sequência da interrupção do fluxo sanguíneo que estimula a libertação de FFA.^(23,88)

A monitorização de um aumento dos níveis plasmáticos de uFFA tem sido proposto como biomarcador de isquemia do miocárdio.^(8,87,88)

Num estudo de *Apple et al* em 30 doentes com SCA verificou-se que os níveis de uFFA estavam aumentados em 28 dos 30 doentes (93%) com dor torácica, com uma margem de valores entre os 2,0 a 430 nM. Todos os 9 doentes (100%) com diagnóstico final de EM tinham níveis aumentados de uFFA. Estes dados sugerem que níveis plasmáticos de uFFA estão aumentados em doentes com isquemia, na presença ou ausência de necrose. O potencial deste biomarcador é a deteção precoce da isquemia. ⁽⁸⁸⁾

Num outro estudo, as concentrações de uFFA no soro foram avaliadas em 22 doentes, 5 minutos antes da angioplastia coronária transluminal cutânea (PCTA) e 30 minutos depois deste procedimento. As concentrações, após a PCTA, foram significativamente maiores do que os níveis basais em todos os doentes, com uma média das concentrações de uFFA 5 vezes superior, comparado com a média dos valores em indivíduos saudáveis. As alterações isquémicas do segmento ST foram monitorizadas por ECG e só se observaram em apenas 50% dos doentes. Para além disto, as concentrações de uFFA foram significativamente maiores no grupo ECG-positivo. ⁽⁸⁷⁾

Estes dados preliminares sugerem que, em doentes que se apresentem com sintomas de isquemia, a monitorização dos níveis plasmáticos de uFFA podem fornecer uma indicação precoce da isquemia do miocárdio. No entanto, são necessários mais estudos para avaliar o verdadeiro interesse clínico deste biomarcador na SCA. ⁽⁸⁾

Técnicas de Quantificação

Os uFFA podem ser medidos com proteína recombinante de ligação aos ácidos gordos, marcada com um composto fluorescente (ADIFAB), a 37°C. Quando o FFA se liga ao ADIFAB, o composto fluorescente é deslocado da sua bolsa de ligação, produzindo um desvio espectral que pode depois ser medido com um fluorómetro. ^(8,87)

Mais recentemente, foi descrito um segundo ensaio de segunda geração usando outra molécula, sonda fluorescente ADIFAB2, e um leitor de mão com um tempo de retorno de menos de 1 minuto. Este método realiza-se a 22°C e com 15 µL de plasma, não sendo afetado pela hemoglobina e mostrando ter maior sensibilidade. ⁽⁸⁾

Valores de Referência

7,5 nM ± 2,5 nM ⁽⁸⁹⁾

3.2 Marcadores de Necrose

Proteína cardíaca de ligação aos ácidos gordos (h-FABP)

Estudos recentes sugerem que a proteína cardíaca de ligação aos ácidos gordos (h-FABP) pode ser um potencial biomarcador para o diagnóstico precoce de SCA. Estas proteínas localizam-se no citoplasma e são relativamente pequenas (12-15 KDa).^(73-76,87,90,91) Encontram-se, sobretudo, em tecidos com metabolismo ativo de ácidos gordos, incluindo o tecido cardíaco⁽⁷³⁾, mas podendo também encontrar-se, embora em menores quantidades, no músculo-esquelético, células do túbulo distal renal, algumas zonas cerebrais, glândulas mamárias e na placenta.⁽²³⁾ Não há dúvida de que esta proteína é particularmente importante para a homeostasia do miocárdio, uma vez que, 50-80% da energia é proveniente da oxidação lipídica e a h-FABP assegura o transporte intracelular dos ácidos gordos,⁽⁷³⁾ mas também de outras moléculas lipofílicas, como eicosanóides e retinóides.⁽²³⁾

É indetetável em condições normais (<5 µg/L) mas é libertada pelo miocárdio após vários tipos de lesão, nomeadamente a isquemia do miocárdio.^(76,87)

Na sequência de uma lesão miocárdica, esta pequena proteína difunde-se mais rapidamente do que as troponinas, através do espaço intersticial e aparece na circulação 1-3 horas após o início dos sintomas, com pico às 6-8 horas, regressando ao normal entre as 24-30 horas.^(73,90)

A elevada concentração desta proteína no tecido miocárdico, a sua presença predominantemente no citosol, aliada ao baixo peso molecular, especificidade tecidular relativa e aparecimento precoce no plasma, faz com que a h-FABP seja um excelente candidato a marcador de lesão miocárdica.⁽⁹¹⁾

Em Julho de 2010, o doseamento da h-FABP foi aprovado no Japão para o diagnóstico precoce do EM.⁽⁹²⁾

A tabela que se segue reúne os vários métodos de doseamento e algumas das suas características, desde as primeiras técnicas, de ELISA em 1997 aos métodos mais recentes, de fluxo lateral em 2003.⁽⁸⁷⁾ (Tabela 3.1)

Tabela 3.1 - Características dos imunoenaios para h-FABP. (Adaptado de Azzazy *et al*, 2006)

Ensaio	Tempo do ensaio (min)	Amostra	Margem de calibração (µg/L)	Limite de deteção (µg/L)	Limite de referência superior(µg/L)
ELISA	45	Soro:plasma	0 – 60	0,3	6
IFMA	50	Soro:plasma	0 – 300	0,1	6
Imunosensor	20	Plasma	0 – 350	5	10
Látex	10	Soro:plasma	0 – 150	1,1	14
Fluxo lateral	15	Sangue total		6,2	6,2
Imunosensor	50	Sangue total	0 – 250	4	
Fluxo lateral	15	Sangue total	0 – 125	2,8	7

ELISA: ensaio imunoenzimático; IFMA: ensaio imunofluorométrico;

Numerosas publicações têm sugerido a associação da h-FABP às troponinas, para um diagnóstico precoce do EM.

Ecollan et al em 2006 registaram prospectivamente 108 doentes com dor torácica do tipo isquémica, com o objetivo de avaliar a precisão diagnóstica do teste POC CardioDetect[®] comparativamente com as troponinas, mioglobina e CK-MB na deteção precoce do EM. Todos os doentes foram submetidos a determinações (pré-hospitalares) no sangue da cTnI, mioglobina e CK-MB, ao mesmo tempo que também era doseada a h-FABP com a tecnologia CardioDetect[®]. Este teste é uma determinação qualitativa de um só passo e trata-se de um imunoensaio cromatográfico rápido para deteção da h-FABP solúvel nas amostras de sangue. O princípio do teste baseia-se num fluxo lateral de soro no qual a amostra é ligada a um bloco contendo anticorpos específicos de captura que rapidamente ficam embebidos, através de um bloco conjugado que contém o detetor do anticorpo para h-FABP. À medida que a amostra passa na zona do teste onde o anticorpo de captura é imobilizado, o complexo analito-detetor é subsequentemente ligado e o excesso de detetor é preso pela zona de controlo. ⁽⁷⁶⁾ A Figura 3.4 mostra o esquema deste imunoensaio.

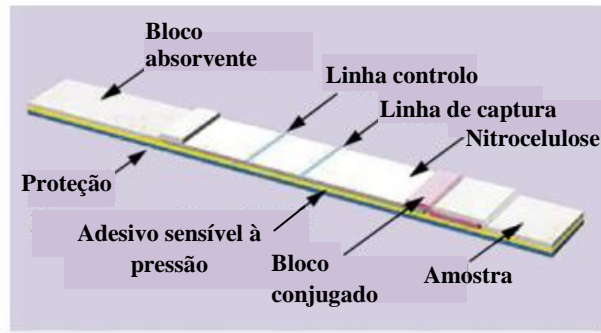


Figura 3.4 - Esquema do teste CardioDetect®.
(Adaptado de *Ecollan*, 2006)

O limite de deteção deste teste é de 2,8 ng/ml e o *cutoff* é de 7 ng/ml, determinados pelo fabricante.^(74,76,90,93)

Uma das grandes vantagens é a rapidez com que o resultado é conhecido: após a aplicação das 3 gotas de sangue (100-120 μL)⁽⁹⁰⁾ na tira, os resultados estão disponíveis, em 15 minutos.^(75,76,90,91,93)

O ensaio semi-quantitativo mostrou ter uma sensibilidade significativamente melhor em comparação com os restantes testes *point of care* (POC) dos biomarcadores cTnI, CK-MB e mioglobina e também melhor especificidade, exceto quando comparado com CK-MB e cTnI (onde, por definição, a especificidade é de 100%). Além disso, o VPN do teste CardioDetect® foi de 87,7% quando os restantes resultados foram de 53,3%, 60,4% e 55,2% para a CK-MB, mioglobina e cTnI, respetivamente.⁽⁷⁶⁾

A maioria dos doentes com dor torácica e supradesnivelamento do segmento ST no ECG tem um diagnóstico final de EM (80,5%). Estes doentes têm mais frequentemente um resultado precocemente positivo (primeiras 3 horas após o início da dor) para h-FABP que para cTnI (70,7% vs 19,5%, $p < 0,0001$). A maioria dos doentes sem supradesnivelamento do segmento ST tem resultado negativo para cTnI, nas primeiras 3 horas. Neste subgrupo, 28,6% têm diagnóstico final de EM, dos quais 83,3% tinham resultado precocemente positivo no CardioDetect®.⁽⁷⁶⁾

Assim, este estudo demonstrou que a determinação precoce de h-FABP usado como teste semiquantitativo, em doentes com dor torácica, apresentou uma melhor performance de diagnóstico do que os outros testes POC com os quais se fez a

comparação. Isto é especialmente verdade para doentes nas primeiras 3 horas, após o início dos sintomas, o que representa 2/3 dos doentes.⁽⁷⁶⁾

Jun Liao et al, em 2008, também avaliaram a performance diagnóstica do imunoensaio com a h-FABP, em doentes com suspeita de EM comparativamente com mioglobina, CK-MB e cTnI. Neste estudo, com uma amostra de 74 doentes, 54 foram diagnosticados com EM, sendo que 39 tinham EMCS DST e 15 foram diagnosticados com EMSS DST. Um grupo de 20 doentes foi diagnosticado com angina estável, HTA, pneumonia, taquicardia ventricular paroxismal ou insuficiência renal crónica.⁽⁹⁰⁾

A Tabela 3.2 mostra-nos a performance da h-FABP na apresentação do doente. Uma melhor performance foi conseguida em doentes idosos, mulheres e doentes hipertensos. Nas mulheres, a h-FABP demonstrou melhor sensibilidade, mas menor especificidade.⁽⁹⁰⁾

Tabela 3.2 - Características dos biomarcadores em comparação no estudo. (Adaptado de *Liao et al*, 2008)

Parâmetro	Cutoff (µg/L)	Sensibilidade	Especificidade	VPP	VPN
h-FABP	7,0	83,3	30,0	76,3	40,0
Mioglobina	70	75,9	25,0	73,2	27,8
cTnI	0,5	64,8	50,0	77,8	34,5
CK-MB	4,0	65,0	35,2	72,9	26,9

Dos 53 doentes em que tanto a h-FABP como a cTnI estavam aumentadas, verificou-se que a h-FABP teve um resultado positivo mais cedo do que a troponina em 17 doentes, enquanto a troponina apenas foi mais precoce que a h-FABP em 6 doentes ($p < 0,05$).⁽⁹⁰⁾

Comparando a h-FABP com a mioglobina, há a salientar o facto de o conteúdo miocárdico de h-FABP (0,57 mg/g de peso líquido) ser 4 a 5 vezes mais baixo que o de mioglobina (2,7 mg/g de peso líquido), sendo que o valor de referência para a concentração plasmática de h-FABP (1,8 µg/L) é 19 vezes mais baixo que o da mioglobina (34 µg/L). Isto significa que, após a lesão do tecido o gradiente plasmático, é quase 5 vezes maior para a h-FABP que para a mioglobina, fazendo com que o aumento plasmático da h-FABP seja mais rápido após o início do EM, permitindo um diagnóstico precoce.⁽⁹⁰⁾

Em 2009, *Orak et al* seguiram 83 doentes que se incluíam nos seguintes critérios: recebidos no hospital com dor torácica repentina; história clínica de dispneia, náusea, vômitos, ou síncope; apresentarem-se no hospital até às 6 horas após o início dos sintomas.⁽⁹¹⁾

Os doentes com SCA (n=65) foram agrupados em doentes com: AI, EMSSDST, EMCSDST. Aqueles, cuja dor torácica revelou ser de origem não cardíaca (n=15), foram classificados como grupo “controlo”. Em ambos os grupos foram doseados os marcadores cardíacos.⁽⁹¹⁾ Os resultados deste doseamento estão na Tabela 3.3.

Tabela 3.3 - Médias dos valores dos marcadores cardíacos de acordo com os subtipos da SCA. (Adaptado de *Orak et al, 2009*)

Parâmetro	AI (n=12)	EMSSDST (n=5)	EMCSDST (n=48)
CK-MB (U/L)	31,00±13,28	78,60±18,33	125,63±132,95*
h-FABP (ng/ml)	6,78±7,35*	10,26±12,75	7,46±7,49*
Troponina I (U/L)	3,66±10,99	8,08±9,42	8,28±21,33

*Quando comparado com o grupo controlo, verificou-se que a diferença entre médias era estatisticamente significativa ($p < 0,001$)

O valor de h-FABP no grupo controlo variou entre 0,20 e 2,00 ng/ml. Com base nestes valores, o *cutoff* aceite para este marcador foi de 2,00 ng/ml⁽⁹¹⁾, o que é um valor bastante mais baixo que o utilizado pela maioria dos outros estudos (7,0 ng/ml) o que, obviamente, influencia a sensibilidade e a especificidade do marcador. Nos doentes com SCA, a sensibilidade de h-FABP foi de 98% e a especificidade de 71%; a sensibilidade da CK-MB foi de 86% e a especificidade de 52%; a troponina I mostrou uma sensibilidade de 77% e a especificidade foi de 20%.⁽⁹¹⁾

Para confirmar a sensibilidade e especificidade destes marcadores, foi realizada uma análise ROC (*receiver operating characteristic*) para as 0 a 6 horas. (Figura 3.5)

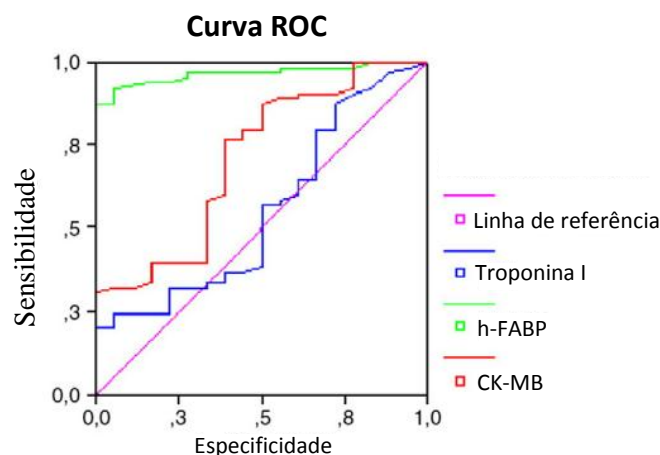


Figura 3.5 - Análise da curva ROC para os marcadores h-FABP, CK-MB e troponina I no grupo de doentes com SCA entre as 0 e 6 horas. (Adaptado de *Orak et al, 2009*)

Estes dados são indicativos de que a h-FABP pode vir a ser considerado como um marcador para o diagnóstico precoce da lesão do miocárdio até as 6 horas.⁽⁹¹⁾

Gururajan et al, em 2010, levaram a cabo um estudo com 485 participantes: 386 doentes admitidos no departamento de emergência com dor torácica e outros sintomas sugestivos de EM e 99 indivíduos servindo de grupo controlo saudável. Os doentes com dor torácica isquémica foram divididos em dois grupos: doentes com EMCS DST e doentes com EMSS DST/AI, de acordo com os dados do ECG e os resultados das análises às enzimas cardíacas. Dos 386 doentes, 297 tinham diagnóstico de SCA e os restantes 89 foram diagnosticados com dor torácica de origem não cardíaca (DTONC).⁽⁷³⁾

A comparação dos níveis dos marcadores nos diferentes grupos de participantes encontra-se na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 - Comparação dos níveis no soro de h-FABP com a troponina I e CK-MB nos diferentes grupos de participantes. (Adaptado de *Gururajan et al, 2010*)

Parâmetro	Controlo	DTONC	EMCS DST	EMSS DST	AI
h-FABP (ng/ml)	8,9±3,9	11,8±5,6	29,6±10,2	24,54±8,4	21,1±4,7
Troponina I (ng/ml)	0,02±0,04	0,08±0,4	6,7±8,3	2,3±5,5	0,4±2,2
CK-MB (IU/l)	19,5±7,3	20,2±8,6	94,2±87,8	62,6±74,5	29,6±25,0

A Tabela 3.5 mostra a sensibilidade e especificidade dos biomarcadores doseados neste estudo, bem como o valor preditivo positivo (VPP) e o valor preditivo negativo (VPN).

Tabela 3.5 - Comparação da sensibilidade, especificidade VPP e VPN da h-FABP com a CK-MB e a cTnI. (Adaptado de *Gururajan et al, 2010*)

Biomarcador	Sensibilidade (%)	Especificidade (%)	VPP	VPN
Troponina I	54	95	94	57
CK-MB	57	93	92	58
h-FABP	87	93	95	82

De facto, estes resultados demonstram que a h-FABP pode muito bem adaptar-se ao diagnóstico precoce de SCA. Os valores aumentados da h-FABP e a sua elevada sensibilidade e especificidade (nas primeiras horas do início dos sintomas) permitem

uma triagem mais segura e rápida, desempenhando um papel importante no diagnóstico precoce do EM.⁽⁷³⁾

Também em 2010, *Haltere et al*, avaliaram o valor diagnóstico do doseamento da h-FABP no diagnóstico precoce do EM em 97 doentes com dor torácica.⁽⁷⁴⁾

A h-FABP revelou ter maior sensibilidade nas primeiras 4 horas de sintomas em relação à troponina (86% vs 42%) com $p < 0,05$. A combinação da h-FABP com cTnI também melhorou a sensibilidade do diagnóstico do EM (97% vs 71%) $p < 0,05$. No entanto, a h-FABP demonstrou ter fraca especificidade (65%), o que pode ter várias explicações: em primeiro lugar, a insuficiência renal, uma vez que é sabido que aumenta, significativamente, os níveis desta proteína no soro; em segundo, a h-FABP pode ser libertada pelo miocárdio lesado mesmo sem isquemia; outra razão é o facto de a libertação de origem não cardíaca influenciar os resultados de doentes com dor torácica aguda e explicar os níveis elevados desta proteína em doentes não isquémicos, uma vez que a h-FABP também pode estar presente no músculo esquelético e outros tecidos, embora em concentrações mais baixas.⁽⁷⁴⁾

Este estudo concluiu que se o doseamento de h-FABP for feito em doentes com EM antes das 4 horas, após o início dos sintomas, a sua performance é significativamente melhor do que a cTnI. Quando analisamos doentes com EMSSDST, a h-FABP demonstra pouca utilidade. Uma vez que se trata de um evento tromboembólico, muitas vezes repentino, de oclusão microvascular, resultante da rutura de uma placa aterosclerótica, os erros de classificação da h-FABP podem ser atribuídos às pequenas quantidades de FABP rapidamente eliminadas do soro, em contraste com as moléculas de troponina de maiores dimensões, que se acumulam progressivamente.⁽⁷⁴⁾

Em 2011, *Freund et al* avaliaram o valor acrescentado da h-FABP com a troponina para excluir rapidamente o diagnóstico de EM, num estudo multicentro com 317 doentes. No entanto, concluíram que este novo biomarcador não tem valor adicional, para além da cTnT para o diagnóstico da necrose do miocárdio (EMCSDST e EMSSDST) em doentes com dor torácica até às primeiras 6 horas do início dos sintomas.⁽⁷⁵⁾

No mesmo ano, *Kagawa et al* analisaram a relevância do teste da h-FABP para o diagnóstico precoce do EM quando comparado com o atual teste de alta sensibilidade da troponina, através de um estudo observacional com 114 doentes. Concluíram que a

performance da h-FABP para a detecção precoce do EM é limitada sobretudo pela fraca especificidade.⁽⁹²⁾ Os resultados da análise ROC estão na Figura 3.6.

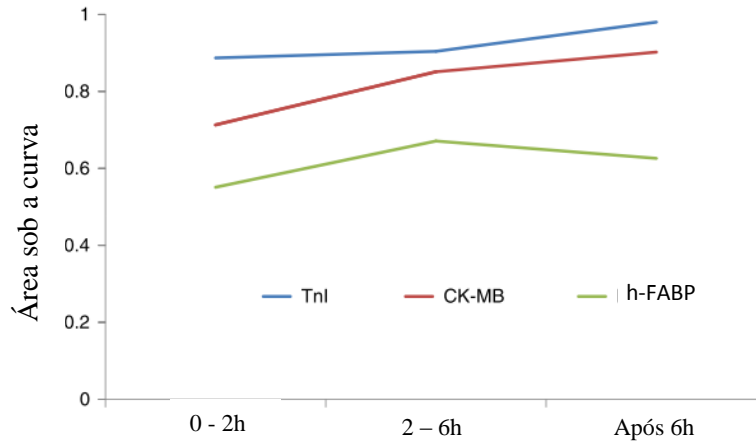


Figura 3.6 - Análise ROC para os biomarcadores em estudo em função do tempo (horas) após o início dos sintomas. (Adaptado de Kagawa *et al*, 2011)

Valores de Referência

Em condições normais situa-se abaixo dos 5 µg/L.^(76,87)

Proteína C de ligação à miosina (cMyBP-C)

A miosina constitui o miofilamento grosso da maquinaria contrátil do músculo. Estes miofilamentos têm cerca de 12 nm de diâmetro e 1800 nm de comprimento. Os miofilamentos de actina e miosina organizam-se em unidades altamente organizadas, dando origem aos sarcómeros que se unem topo a topo para formar as miofibrilhas.⁽²⁸⁾

A miosina é composta por um par de cadeias pesadas (200 KDa) e um par de cadeias leves do tipo I e tipo II (20 a 26 KDa).⁽⁵⁰⁾

Como já foi referido no subcapítulo 2.2, as cadeias leves de miosina, como biomarcador cardíaco, foram abandonadas por apresentar fraca especificidade.^(9,68-71) Mais recentemente, a proteína C de ligação à miosina (cMyBP-C) surge como candidata a biomarcador no diagnóstico de EM.^(98,99) Trata-se de uma proteína que estabiliza a estrutura sarcomérica e regula a função cardíaca. De facto, surgem cada vez mais evidências de que a cMyBP-C desempenha um papel fulcral na regulação da função da miosina e da contração cardíaca.^(98,99) A degradação da cMyBP-C, originando a libertação de fragmentos de 40 KDa, durante o EM correlaciona-se com a disfunção

cardíaca. ⁽⁹⁸⁾ Além do mais, existem três isoformas da MyBP-C: músculo esquelético rápido, músculo esquelético lento e músculo cardíaco, as quais são codificadas por genes específicos. Assim, a cMyBP-C modula a montagem da miosina e estabiliza os filamentos, proporcionando um arranjo ideal da actina-miosina no sarcômero. Durante o EM, as regiões N da cMyBP-C são degradadas. Sabe-se também que é a fosforilação da cMyBP-C que regula a função miocárdica e confere proteção contra a lesão, embora o seu mecanismo ainda não esteja completamente esclarecido. ⁽⁹⁸⁾ Recentemente, no ano de 2012, *Govindan et al* mostraram que em modelos animais com pós enfarte os níveis de fragmentos de cMyBP-C estavam aumentados e indivíduos com diagnóstico de EM tinham também níveis mais elevados de cMyBP-C. ⁽⁹⁸⁾ Também no mesmo ano, *Decker et al* observaram que em modelos animais com fluxo coronário normal, toda a cMyBP-C estava ligada às miofibrilas sem cMyBP-C desfosforilada. Por sua vez, a isquemia produzia a desfosforilação da cMyBP-C e a redução da contratilidade. A desfosforilação da proteína conduzia à sua libertação para o citoplasma. ⁽⁹⁹⁾ Seria útil, tendo por base estes dados, levar a cabo estudos clínicos de larga escala com a finalidade de determinar o tempo de libertação da proteína para o citoplasma, pico de concentrações, semi-vida na circulação, sensibilidade e especificidade deste potencial biomarcador.

3.3 Marcadores de Inflamação

A síndrome coronária aguda é causada, em grande parte, pela rutura de placas vulneráveis, com conseqüente trombose. Pensa-se que uma das forças impulsionadoras que causam a rutura ou erosão da placa ateromatosa, originando uma cascata de eventos que culmina, eventualmente, com a oclusão da artéria coronária, é a inflamação das placas. ⁽¹⁰⁰⁾ A investigação mais recente tem-se focado em identificar biomarcadores que, sozinhos ou em combinação com outros marcadores de risco, podem ser úteis na monitorização do tratamento e como marcadores de prognóstico para futuros eventos coronários e morte do foro cardíaco, em doentes com doença isquémica cardíaca. Assim, neste subcapítulo, pretende-se abordar alguns dos biomarcadores de inflamação que podem ser úteis no diagnóstico e na previsão de eventos cardiovasculares num estado precoce, possibilitando a estratificação de risco. Na Figura 3.7 está representado um esquema da sequência fisiopatológica da SCA e dos biomarcadores de inflamação associados a cada fase, alguns dos quais serão abordados ao longo do subcapítulo que se segue.

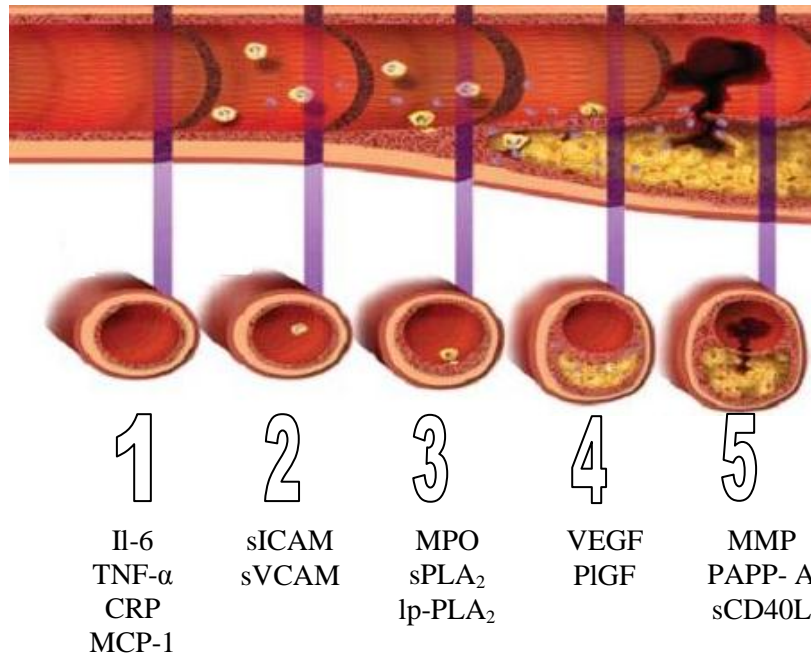


Figura 3.7 - Sequência fisiopatológica dos biomarcadores de inflamação na Síndrome Coronária Aguda. Il-6: interleucina 6; TNF- α : Fator de necrose tumoral; CRP: Proteína C reativa; MCP-1: Proteína quimiotática de monócitos; SAA: Proteína amiloide sérica; sICAM: molécula solúvel de adesão intercelular; sVCAM: molécula solúvel de adesão celular vascular; MPO: mieloperoxidase; sPLA₂: Fosfolipase A2 secretora; Lp-PLA₂: Fosfolipase A2 associada a lipoproteína; VEGF: Fator de crescimento do endotélio vascular; PIGF: Fator de crescimento placentar; MMP: Metaloproteinases; PAPP-A: Proteína A plasmática associada à gestação; sCD40L: Ligando CD40 solúvel (Adaptado de Armstrong *et al*, 2006)

Proteína C reativa (CRP)

A proteína C reativa (CRP) é uma proteína de fase aguda, com peso molecular de 23 KDa,^(49,50,101) sintetizada no fígado que está elevada em condições inflamatórias, em particular, em resposta à interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF- α).^(13,15,18,102) Uma vez ligada ao ligando, a CRP pode ativar a via do complemento, estimulando a fagocitose e a ligação aos recetores da imunoglobulina.⁽²³⁾ A CRP tem uma semi-vida plasmática longa (18 a 20 horas)⁽¹⁰¹⁾ e é mais recentemente entendida como marcador da doença aterosclerótica, sendo o biomarcador de inflamação mais estudado.^(13,15,18,49,101,103) (Figura 3.8)

Várias publicações sugerem que a CRP desempenha um papel direto na fisiopatologia do desenvolvimento e progressão de aterosclerose. Alguns dos mecanismos propostos incluem: indução da disfunção endotelial, libertação de citocinas pró-inflamatórias como as interleucinas IL-1, IL-6 e fator de necrose tumoral (TNF- α), promoção da formação de células espumosas, ativação do sistema complemento, na placa aterosclerótica e no miocárdio isquémico.^(102,104)

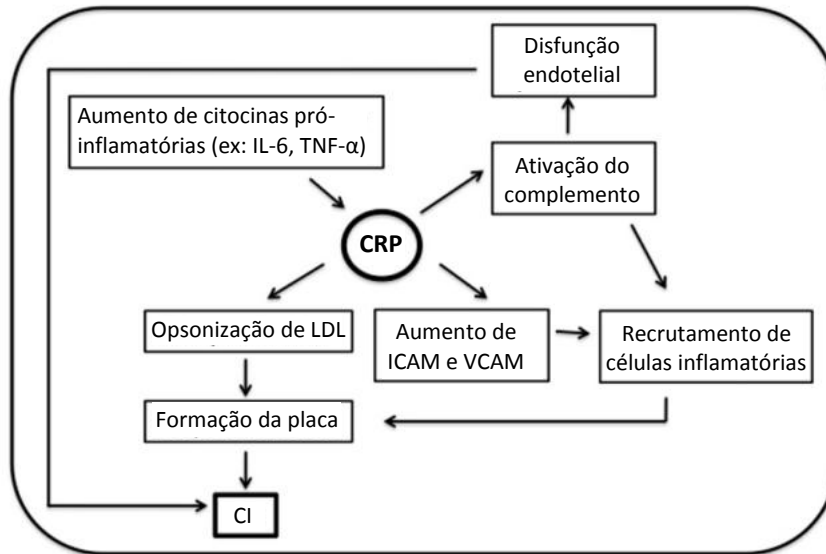


Figura 3.8 - Esquema representativo dos potenciais mecanismos da Proteína C reativa (CRP) na patogênese da Cardiopatia Isquêmica (CI). ICAM: molécula de adesão intercelular; VCAM: molécula de adesão celular vascular; TNF: fator de necrose tumoral; IL-6: interleucina 6 (Adaptado de Lakshmanadoss, 2012)

Doentes com SCA apresentam elevações da CRP em associação com os restantes sintomas típicos. ^(18,102)

Estudos epidemiológicos em grande escala revelam que doentes com AI e níveis plasmáticos elevados de CRP (≥ 3 mg/l) têm maiores taxas de morte, EM e necessidade de revascularização comparativamente a doentes sem concentrações elevadas de CRP. ^(23,104)

Os investigadores do estudo TIMI (*Thrombolysis in Myocardial Infarction*) provaram que um aumento do risco associado a elevados níveis de CRP pode ser evidente aos 14 dias, após a apresentação com SCA. ⁽¹⁰⁴⁾

No estudo CAPTURE, os investigadores descobriram que, embora a troponina T sozinha seja preditiva para as primeiras 72 horas, tanto a CRP como a troponina T são fatores preditores independentes para o risco aos seis meses. ⁽¹⁰⁴⁾

Num outro estudo, designado FRISC, foi constatado que, o risco associado aos níveis elevados de CRP no momento do evento clínico, continua a aumentar durante vários anos. ⁽¹⁰⁴⁾

Abdelmouttaleb et al, num estudo publicado em 1999, comparam os níveis da CRP através de um imunoensaio altamente sensível em 142 doentes com doença arterial

coronária (grupo 1), doentes com angiogramas coronários normais (grupo 2) e indivíduos saudáveis (grupo 3). Os níveis da CRP foram significativamente superiores no grupo 1, confirmando a existência da relação entre os níveis desta proteína e a presença de doença arterial coronária, comprovada por angiografia coronária.⁽¹⁰⁵⁾

Mais tarde, em 2002, *Sabatine et al*, defenderam uma abordagem com vários biomarcadores em simultâneo, para a estratificação do risco em doentes com EMSSDST. Num estudo com 450 doentes, concluíram que a avaliação da troponina, da CRP e do BNP fornece informação prognóstica única.⁽¹⁰⁶⁾ A Tabela 3.6 mostra os resultados deste estudo associando o risco relativo de morte (M), EM e IC com o número de biomarcadores que se encontram elevados.

Tabela 3.6 - Associação entre o risco relativo de Morte (M), Enfarte do Miocárdio (EM) e Insuficiência Cardíaca (IC) e o número de biomarcadores cardíacos elevados. (Adaptado de *Sabatine et al*, 2002)

Evento adverso	Nº de biomarcadores elevados				pvalue
	0	1	2	3	
30 dias					
Morte (M)	1.0	2.1	5.7	13.0	0.0001
EM	1.0	2.6	2.9	1.9	0.03
IC	1.0	1.8	3.2	7.3	0.0046
M/EM	1.0	2.9	3.6	5.1	0.0001
M/EM/IC	1.0	2.7	3.1	5.6	0.0001
6 meses					
M	1.0	1.4	4.7	12.1	0.0001
EM	1.0	1.8	2.3	1.1	0.06
IC	1.0	2.6	4.7	8.4	0.0001
M/EM	1.0	2.0	3.2	4.4	0.0001
M/EM/IC	1.0	2.1	3.2	4.5	0.0001

Brunetti et al, em 2006, constataram, através de um estudo com 192 doentes com SCA, que os níveis de CRP no grupo de doentes diagnosticados com EM-Q aumentaram 3 a 4 vezes mais que nos grupos de doentes com EM-sQ e AI. O mesmo estudo também veio confirmar a relevância para o prognóstico a 6 meses.⁽¹⁰³⁾

Em Copenhaga, um estudo com mais de 10 000 indivíduos aparentemente saudáveis, concluiu que níveis elevados de hs-CRP (> 3mg/L) estão associados com um aumento do risco de cardiopatia isquémica (OR=2,2) comparativamente a indivíduos com níveis de CRP abaixo de 1 mg/L.^(13,15,23,50)

Outra das constatações importantes é de que a CRP tem valor prognóstico, mesmo quando os doentes apresentam testes negativos para as troponinas e não existe evidência de necrose miocárdica. ^(23,104)

Num estudo prospetivo de doentes com EMSSDST, níveis de CRP > 10 mg/L, durante o internamento no hospital, estão associados a maior risco de morte em 20 meses. ⁽¹⁰²⁾

Uma meta-análise concluiu que valores altos da CRP em doentes com EMSSDST ou angina instável conferem um risco 2,5 vezes superior de morte ou EM não fatal num período de 30 dias. ⁽¹⁰²⁾

A CRP tem mostrado ser um fator de risco de eventos cardiovasculares futuros mais forte que os valores LDL. ⁽¹⁰¹⁾ (Figura 3.9)

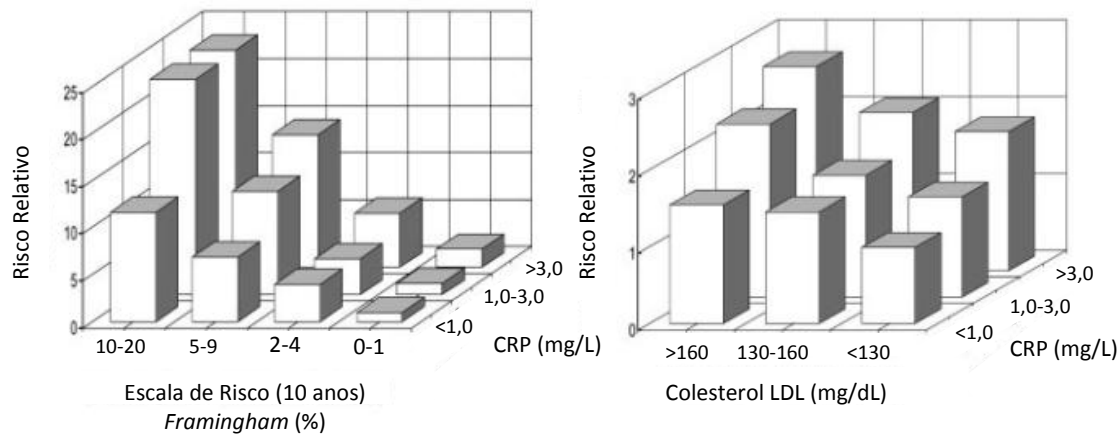


Figura 3.9 - A CRP fornece informação para o prognóstico a todos os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e da escala de risco Framingham. (Adaptado de Ridker, 2003)

A CRP não se relaciona apenas com os triglicéridos, obesidade, pressão sanguínea e glucose em jejum, mas também, com a resistência à insulina. Assim, fica esclarecida, a razão pela qual, a CRP se relaciona de forma independente com os níveis de severidade da síndrome metabólica. ⁽¹⁰¹⁾

Técnicas de Quantificação

Os ensaios tradicionais para a quantificação da CRP não têm sensibilidade adequada para detetar níveis necessários para prever as doenças cardiovasculares. Para melhorar este problema, nos anos 90 surgiram métodos de quantificação da CRP mais rápidos e precisos. ^(23,101)

Assim, os ensaios altamente sensitivos da CRP (hs-CRP) vieram colmatar esta dificuldade, permitindo detetar concentrações muito baixas da CRP (0,04 mg/L).⁽²³⁾

Valores de Referência

Em indivíduos saudáveis, o valor de referência para a CRP situa-se abaixo dos 3 mg/L.⁽²³⁾ A AHA define os seguintes grupos de risco: baixo risco (níveis inferiores a 1,0 mg/L; risco médio (1,0 a 3,0 mg/L) e alto risco (acima de 3,0 mg/L)^(23,49,101)

Homocisteína

A homocisteína é um aminoácido que contém enxofre, fortemente relacionado com a cisteína mas com um grupo metileno adicional (CH₂).^(49,50) A homocisteína não deriva da dieta, mas antes da biossíntese da metionina, através de uma desmetilação. A homocisteína pode ser reciclada em metionina ou convertida a cisteína catalisada pela cistationina β-sintetase, tendo como co-fator a piridoxina (vitamina B₆).^(49,50)

As deficiências em ácido fólico (vitamina B₉), piridoxina (vitamina B₆) ou cobalamina (vitamina B₁₂) originam aumentos da homocisteína no plasma.^(49,50) Também as causas genéticas, incluindo defeitos na cistationina-β-sintetase, na metionina sintetase (raro) ou na 5,10-metilenetetraidrofolato redutase, podem originar homocisteinemia.⁽⁵⁰⁾

Elevados níveis de homocisteína no plasma constituem, como já foi explicado no subcapítulo 1.5.3, sobre fatores de risco emergentes, um fator de risco para as doenças cardiovasculares. No entanto, mais recentemente, tem surgido o interesse de estudar este aminoácido como marcador de prognóstico da SCA.⁽¹⁰⁷⁾

As bases para os efeitos negativos da homocisteína ainda não são totalmente compreendidos. Em termos bioquímicos o *stress* oxidativo e a inibição das reações de transmetilação são algumas possibilidades. Os efeitos celulares, já documentados em sistemas experimentais, passam por disfunção endotelial, alteração do metabolismo do óxido nítrico, ativação plaquetária e proliferação do músculo liso. Parte da toxicidade da homocisteína pode derivar da conversão enzimática a homocisteína tiolactona, que pode modificar as LDL aumentando o seu *uptake* pelos macrófagos.^(50,107) Tem sido também sugerido, por diversos estudos clínicos, epidemiológicos e experimentais *in vitro* que a homocisteína potencia a formação de trombina.⁽¹⁰⁸⁾ Com o objetivo de confirmar este efeito protrombótico em doentes com SCA, foi realizado um estudo com 117 doentes

com EM ou angina de peito e um grupo de indivíduos com dor torácica de origem não cardíaca que serviu como controlo. Verificou-se que níveis mais elevados de homocisteína estão, de facto, associados a níveis elevados de Fator VIIa e formação de trombina em doentes com SCA.⁽¹⁰⁸⁾ Ainda que a relação entre os níveis de homocisteína e o prognóstico dos doentes com SCA esteja menos estudado, o efeito protrombótico da homocisteína pode exacerbar a trombose intracoronária durante a fase aguda desta síndrome. A somar a este efeito, ainda temos a disfunção endotelial e outros efeitos, acima referidos, que contribuem para uma maior agressividade da doença cardíaca isquémica, após a alta hospitalar, originando, com mais probabilidade, um re-enfarte ou morte durante o período de *follow-up*.⁽¹⁰⁷⁾

Para estudar o efeito dos níveis de homocisteína no prognóstico dos doentes com SCA, *Stubbs et al*, avaliaram 440 doentes (236 com EM e 204 com AI) e, embora tenham verificado que nos primeiros 28 dias, não houve evidência de que o risco de morte estivesse associado aos níveis de homocisteína, após esse período de tempo, os níveis elevados de homocisteína podiam ser considerados como um forte fator preditivo de eventos cardíacos.⁽¹⁰⁷⁾ (Tabela 3.7)

Tabela 3.7 - Resultados dos quintiles, no momento da chegada ao hospital, para os sobreviventes após 28 dias e *odds ratio* para enfarte fatal ou não fatal. (Adaptado de *Stubbs et al*, 2000)

	n	Homocisteína (μmol/L)			Nº eventos	Tempo de seguimento dos doentes (dias)	Odds ratio*
		média	mínimo	máximo			
1º quintil	93	7,3	4,6	8,5	8	262	1,0
2º quintil	73	9,5	8,7	10,1	8	198	0,9
3º quintil	86	11,1	10,2	12,2	9	231	1,0
4º quintil	84	14,0	12,3	15,8	20	208	2,6
5º quintil	79	24,1	15,9		23	201	2,3

*Ajustado para idade e consumo tabágico estratificado por género

Técnicas de Quantificação

Cromatografia líquida de alta performance (HPLC) com deteção por fluorescência.⁽¹⁰⁷⁾

Valores de Referência

Os valores de referência para a homocisteína plasmática são de 6-12 mmol/L em mulheres e 8-14 mmol/L nos homens. Considera-se a existência de hiperhomocisteinemia

moderada para valores entre 16-30 mmol/L, intermédia para valores entre 30-100 mmol/L e severa para valores de homocisteína plasmática superior a 100 mmol/L.⁽¹⁰⁹⁾

Mieloperoxidase (MPO)

A mieloperoxidase é uma enzima peroxidase de 144 KDa presente em abundância nos granulócitos dos neutrófilos e armazenada nos grânulos azurófilos.^(8,13,15,18,23,49,100,104) É constituída por duas cadeias leves de 15 KDa e duas cadeias pesadas (de peso variável) glicosiladas, às quais se liga o pigmento heme. A enzima catalisa a conversão do cloreto com peróxido de hidrogénio a hipoclorito.^(8,23,49,100,110)

A mieloperoxidase é libertada quando os neutrófilos se agregam o que pode indicar uma resposta inflamatória ativa nos vasos sanguíneos.^(8,13,15,18,110) Verificam-se níveis aumentados em doentes com SCA, nas placas ateroscleróticas.^(13,100,104)

Doentes com placas instáveis têm níveis mais elevados de macrófagos e neutrófilos do que doentes com doença arterial coronária estável. A MPO degrada a camada de colagénio do ateroma, tornando a lesão suscetível à erosão e rutura.^(49,111,112) Além disso, esta enzima está implicada na oxidação das LDL, contribuindo para a formação das células espumosas, diminuição de óxido nítrico, contribuindo para a disfunção endotelial.^(8,23,104,110,111,113)

Alguns estudos têm analisado o papel da MPO como marcador cardíaco.^(8,110–114) Um dos estudos verificou que a atividade da MPO era superior em doentes com doença coronária do que em indivíduos do grupo controlo verificados angiograficamente (OR=11,9). A utilidade deste biomarcador, na estratificação de risco, também foi estudada no estudo CAPTURE: foi medida a concentração (massa) da MPO em 1090 doentes com SCA. Determinou-se a taxa de morte e de EM após 6 meses. Com um *cutoff* de 350 µg/L a taxa de risco ajustada foi de 2,25 com intervalo de confiança a 95% (1,32-3,82).^(8,110)

Outro estudo, prospetivo, confirmou que doentes com SCA e níveis elevados de MPO tinham um risco de morte e EM significativamente superior às 72 horas, 30 dias e 6 meses.⁽¹¹⁵⁾ A maior parte dos estudos que avaliaram a utilidade da MPO concluiu que este biomarcador era especialmente importante na estratificação de risco de doentes com EMSSDST.⁽¹¹⁵⁾

Resultados semelhantes foram alcançados num estudo prospectivo com 604 doentes que se apresentavam com dor torácica no departamento de emergência. Neste estudo, o *odds ratio* para eventos adversos aos 6 meses foi semelhante ao estudo CAPTURE: 1.6, 3.6, 4.7 para o segundo, terceiro e quarto quartis, respetivamente (*cutoff* de 119, 198 e 394 pmol/L, respetivamente).⁽¹¹⁰⁾

A vantagem deste biomarcador é o seu aparecimento precoce na circulação: enquanto a troponina, como já foi discutido, demora 3 a 6 horas a aparecer na circulação, a MPO está aumentada após 2 horas do início dos sintomas e está elevada mesmo em doentes com resultados negativos para as cTn, o que indica que os níveis de MPO não estão relacionados com a lesão do miocárdio.^(110,113) Dados deste mesmo estudo revelam que a CRP e a MPO podem fornecer dados complementares na medida em que exploram diferentes campos: a CRP é um marcador da atividade da doença e da inflamação vascular e é especialmente útil na estratificação a longo prazo de doentes com SCA; A MPO é um marcador de instabilidade da placa e da ativação dos neutrófilos, podendo estar associada a estratificação do risco, em particular em doentes com resultados negativos para as troponinas.⁽¹¹⁰⁾

Baldus et al, avaliaram os níveis de MPO em 1090 doentes com SCA e monitorizaram os doentes durante 6 meses, registando eventos de morte e EM. Doentes com níveis superiores a 350 µg/L tinham um risco cardíaco significativamente superior (HR=2.25, p=0.003). No mesmo estudo também se avaliou e comparou os níveis de outros marcadores (cTn, CRP, sCD40L...) e a MPO continuou a ser um fator preditor potente para o risco cardíaco, tanto aos 30 dias como ao fim de 6 meses.⁽¹¹¹⁾

Wang et al, em 2007, publicaram um estudo com 274 doentes com SCA, os quais eram monitorizados durante 1, 3 e 6 meses. Os níveis mais elevados de MPO estavam associados principalmente a doentes diabéticos e com história de doença coronária e lesões coronárias mais severas. Concluíram que os níveis plasmáticos de MPO são um fator de risco independente dos níveis de CRP e de outros marcadores de inflamação e que forneciam informações úteis na determinação do risco de EM, revascularização e eventos cardíacos adversos durante os 6 meses subsequentes.⁽¹¹³⁾

Também no mesmo ano, *Morrow et al*, afirmaram, através de um estudo que abrangeu 1524 doentes com SCA que, doentes com níveis de MPO acima de 884 pM tinham maior risco de EM não fatal ou re-hospitalização num período de 30 dias. ⁽¹¹⁴⁾

A MPO é um marcador de inflamação e *stress* oxidativo, cujos níveis elevados, têm sido consistentemente associados a doentes com SCA. No entanto, são necessários ainda mais estudos para definir com precisão o papel deste potencial biomarcador na SCA. ⁽¹¹⁰⁾ Uma das limitações da maioria dos estudos que avalia as utilidades deste biomarcador na SCA é o facto de usarem diferentes técnicas de doseamento com unidades diferentes e que não podem ser convertidas umas nas outras, havendo por isso, uma necessidade de padronização. Por outro lado, convém lembrar que a MPO participa em qualquer processo infeccioso, inflamatório e infiltrativo, não sendo específico para o tecido cardíaco. ^(8,110)

Técnicas de Quantificação

ELISA (limite de deteção de 1,5 µg/L) ^(110,112-114)

Valores de Referência

Em situações normais encontram-se abaixo de 640 pmol/L. ^(116,117)

Fator de crescimento placentar (PIGF)

O fator de crescimento placentar é um membro da subfamília dos fatores de crescimento do endotélio vascular (VEGF). ^(13,15,115) O fator PIGF é um heterodímero com 50 KDa consistindo em 149 aminoácidos. ⁽⁸⁾ É uma molécula chave para a angiogénese e vasculogénese, em particular, durante a embriogénese. Expressa-se dentro das lesões ateroscleróticas, estando associado à inflamação da placa e ao crescimento vascular. As suas funções biológicas ainda não estão completamente esclarecidas, mas parece estar implicado com a indução dos seguintes processos: crescimento de células vasculares no músculo liso, recrutamento de macrófagos nas lesões ateroscleróticas, produção de fator de necrose tumoral- α (TNF α) e angiogénese patológica. ^(8,13,15,23)

No estudo CAPTURE verificou-se que, níveis de PIGF >27,0 ng/L estavam relacionados de forma independente com o risco de morte e EM não fatal até às 72 horas. ⁽¹¹⁵⁾

Num outro estudo, prospetivo de larga escala, que avaliou os níveis de PIGF de doentes que se apresentavam com dor torácica, mas não tinham alterações eletrocardiográficas, observou-se que doentes com diagnóstico final de SCA tinham níveis mais elevados de PIGF comparativamente a doentes com angina estável ou dor torácica de origem não cardíaca.⁽¹¹⁵⁾

Os níveis plasmáticos de PIGF podem constituir um biomarcador inflamatório para a instabilidade da placa, isquemia do miocárdio e indicativo de piores resultados em doentes com SCA.^(8,23) No entanto, serão necessários mais estudos clínicos que esclareçam o nível de expressão do PIGF nas placas ateroscleróticas, o tempo necessário para essa mesma expressão em doentes com doença arterial coronária e se os níveis deste biomarcador podem influenciar diretamente as decisões terapêuticas nestes doentes.⁽¹¹⁵⁾

Valores de Referência

Em mulheres não grávidas este biomarcador encontra-se, normalmente, abaixo dos 50 pg/ml.⁽¹¹⁸⁾

Metaloproteinases da matriz (MMP)

As metaloproteinases da matriz (MMP) são uma classe de 24 endopeptidases dependentes do zinco que cumprem funções reguladoras da matriz extracelular, que exprimem funções de colagenase ou gelatinase^(8,18,119) e estão presentes em vários tecidos. São reguladas pela transcrição, por certos percursos e pela interação com inibidores endógenos específicos – inibidores teciduais de metaloproteinases (TIMP).^(8,13,23,100)

No coração, estas substâncias participam na remodelação vascular, instabilidade da placa e remodelação ventricular após lesão cardíaca. A MMP-9 é dependente do zinco e também conhecida como gelatinase B. As gelatinases têm 3 repetições no domínio de ligação à fibronectina que permite que se liguem à gelatina, colagénio e laninina.^(8,13,18,119)

No tecido vascular, a MMP-9 e outras MMPs estão localizadas no rebordo da placa que é a área que se julga ser mais suscetível à rutura, em zonas particularmente ricas em

células espumosas. No tecido cardíaco, a MMP-9 é parcialmente responsável pela degradação da matriz extrafibrilar, após a lesão cardíaca.^(8,18,100,119,120) Em doentes com placas ateroscleróticas, a MMP-9 pode contribuir para a perda de integridade mecânica, favorecendo a ruptura.⁽¹²¹⁾ A transcrição de MMPs é estimulada por várias citocinas pró-inflamatórias, como interleucinas 1 e 6, fator de crescimento derivado das plaquetas, CD-40 e TNF- α . Estudos *in vitro* têm mostrado que a transcrição do gene das MMPs é regulada por espécies reativas de oxigênio.⁽¹²⁰⁾

Cimmino et al provaram, recentemente (em 2010), que a MMP-9 pode ser também induzida pela CRP. Expondo, *in vitro*, células de músculo liso à CRP, ocorreu a indução da transcrição do mRNA da MMP-9 e, posteriormente, a secreção da proteína funcional. No mesmo estudo, observou-se também uma correlação entre as concentrações plasmáticas da CRP e da MMP-9 na circulação coronária de doentes com SCA.⁽¹²²⁾

O primeiro artigo que divulgou resultados do doseamento da MMP-9 em doentes com SCA foi publicado por *Kai et al*, em 1998. A média das concentrações plasmáticas dos indivíduos saudáveis situou-se nos 27 $\mu\text{g/L}$ (semelhante aos doentes com angina estável) enquanto que doentes com angina instável tiveram concentrações de MMP-9 a rondar on 87 $\mu\text{g/L}$.^(8,123)

Em 2006, *Ji et al*, publicaram um estudo com o objetivo de avaliar a associação dos níveis de MMP-9 e outros marcadores de inflamação e os diferentes tipos de SCA. Os 90 doentes com SCA tinham níveis de MMP-9 significativamente superiores ($p < 0,01$) aos indivíduos do grupo controlo. Outra observação importante foi a de que, doentes com angina estável não tinham níveis de MMP-9 significativamente diferentes dos indivíduos do grupo controlo.⁽¹²¹⁾

Mais tarde, num estudo de 2009, *Bittner et al*, seguiram prospetivamente 44 doentes com EMSSDST recebidos na unidade coronária e verificaram que a atividade plasmática da MMP-9 estava significativamente aumentada nestes doentes do que nos indivíduos do grupo controlo ($1,38 \pm 0,09$ vezes, $p < 0,001$).⁽¹²⁰⁾

Em termos de relevância para a prática clínica, talvez um dos estudos mais importantes tenha sido o de *Kobayashi et al*, em 2011, que tinha como objetivo avaliar o valor diagnóstico da MMP-9 antes e após as 4 horas do início dos sintomas, comparando os resultados com a hs-TnT. Neste estudo, foram incluídos 200 doentes com EMSSDST e

66 com EMSSDST e 40 indivíduos com angina estável (AE) como grupo controlo. Os resultados da análise ROC mostraram que para a deteção precoce (<4 horas) de EMCSST a sensibilidade e especificidade da MMP-9 foi de 85,2% e 75%, respetivamente, com *cutoff* de 46 ng/ml, enquanto que para a hs-TnT foi de 62,6% e 82,5%, com *cutoff* de 0,0191 ng/ml. No caso do EMSSDST a sensibilidade e especificidade da MMP-9 foi de 68% e 85%, respetivamente com *cutoff* de 60 ng/ml e para a hs-TnT foi de 64% e 85% com *cutoff* de 0,0211 ng/ml.⁽¹²⁴⁾

Já relativamente ao diagnóstico após as 4 horas do início dos sintomas, a MMP-9 deteta o EMCSST com 75,3% de sensibilidade e 72,5% de especificidade com *cutoff* de 46 ng/ml e a hs-TnT com 98,8% de sensibilidade e 92,5% de especificidade com *cutoff* de 0,0367 ng/ml. No caso do EMSSDST, a MMP-9 deteta com 58,5% de sensibilidade e 72,5% de especificidade com *cutoff* de 46 ng/ml e hs-TnT deteta com 95,1% de sensibilidade e 82,5% de especificidade com *cutoff* de 0,0192 ng/ml.⁽¹²⁴⁾ Analisando estes valores, conclui-se que as concentrações de MMP-9 aumentam mais cedo que a TnT e com maior valor diagnóstico, nas primeiras 4 horas dos sintomas, refletindo precisamente a rutura da placa. Estes resultados são importantes porque embora a hs-TnT seja considerada o novo *gold standard* para o diagnóstico de EM, pelas razões anteriormente mencionadas, a sensibilidade e especificidade pode não ser suficiente em estados precoces da SCA (principalmente antes das 4 horas). Por isso, a constatação de que a MMP-9 possa ser útil como marcador precoce, abre uma nova esperança de se encontrar um biomarcador cardíaco que venha colmatar esta limitação das troponinas.

Num estudo de 2013, a MMP-9 é apresentada como potencial biomarcador para a remodelação cardíaca após EM.⁽¹²⁵⁾

Técnicas de Quantificação

Método ELISA^(121–123)

Valores de Referência

41±27,8 ng/ml⁽¹²⁶⁾

Proteína A plasmática associada à gestação (PAPP-A)

A proteína A plasmática associada à gestação (PAPP-A) é uma metaloproteinase de ligação ao zinco, de alto peso molecular (≈ 200 KDa,⁽⁸⁾) que atua como protéase

específica.^(8,13,15,18,127-129) Foi originalmente identificada no soro de mulheres grávidas, em 1970.^(119,127,129,130) PAPP- A é produzida pelo tecido placentar. Os níveis circulantes desta proteína aumentam durante a gravidez e podem ser usados no diagnóstico da Síndrome de *Down*.^(8,13,15,18,119,127,131) Mais recentemente, foi identificada em tecidos não placentários. Evidências histológicas, usando anticorpos monoclonais, mostram que a PAPP-A é expressa em grandes quantidades nas placas coronárias em rutura ou erosão, não estando presente em placas estáveis. Também se acredita que esteja relacionada com o desenvolvimento da aterosclerose e consequente instabilidade da placa em doentes com SCA.^(7,18,23,100,119,127,129,131) As células que se julga serem as responsáveis pela produção e secreção da PAPP-A nas placas ateroscleróticas são as células endoteliais vasculares e células vasculares de músculo liso.^(7,131)

A PAPP-A é uma protéase que circula ligada ao inibidor, a pró-forma da proteína básica *major* dos eosinófilos (proMBP). A PAPP-A livre cliva o complexo entre o fator de crescimento semelhante à insulina -1 (IGF-1) e pelo menos 3 das 6 proteínas de ligação ao IGF-1 (IGFBPs). Embora, nem todos os complexos IGF-1/IGFBP sejam clivados pela PAPP-A, é intuitivo que uma das funções principais da PAPP-A seja permitir que o IGF-1 livre possa interagir com o recetor de membrana da tirosina cinase. O IGF-1 ativa a via proliferativa da proteína-cinase ativadora da mitogénese (MAPK), mas também a síntese de óxido nítrico (NO), que tem múltiplos efeitos cardio-protetores.^(7,130,131)

(Figura 3.10)

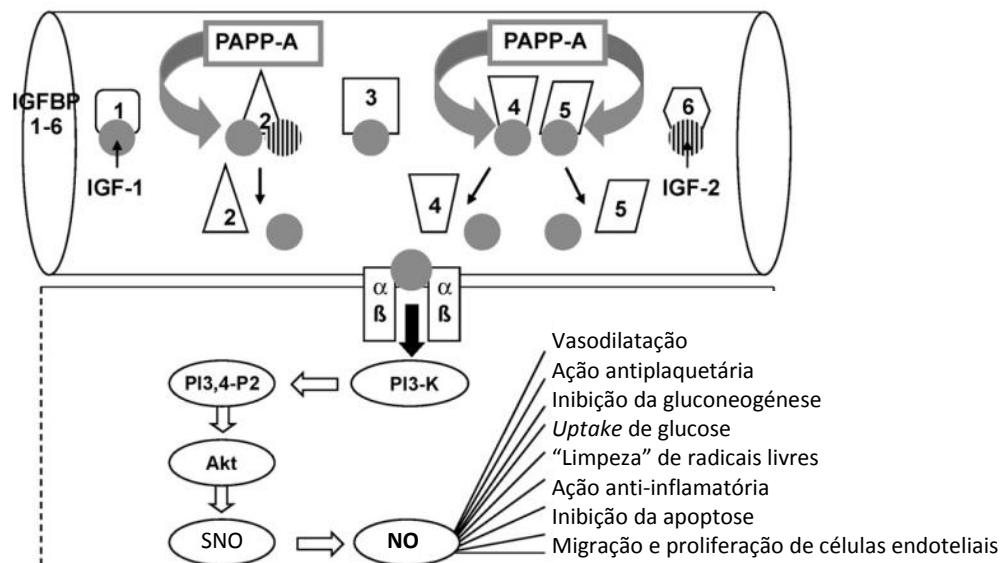


Figura 3.10 - A maior parte dos fatores de crescimento semelhantes à insulina (IGF) no sangue estão ligados às proteínas de ligação ao IGF (PBs). A proteína A associada à gestação (PAPP-A) liberta o IGF-1 do IGFBP-2, -4 e -5. O IGF-1 livre interage com o seu recetor de membrana causando a fosforilação do fosfatidilinositol 3-cinase (PI3-K), que converte o fosfatidilinositol 3-fosfato em fosfatidilinositol 3,4-difosfato (P13,4-P2) que por sua vez ativa a serina/treonina cinase (Akt) que fosforila a óxido nítrico sintetase (SNO), conduzindo à produção de óxido nítrico (NO) cujas funções estão listadas na figura. (Adaptado de *Andreotti et al, 2009*)

Numerosos estudos mostram que os níveis desta proteína são mais elevados em doentes com SCA, comparativamente a indivíduos do grupo controlo ou doentes com angina estável. ⁽¹²⁷⁾ De salientar que, a forma circulante da PAPP-A que contribui para o aumento da concentração observada em casos de SCA não é a mesma observada em grávidas: a forma relacionada com SCA não está complexada com proMBP e pensa-se que seja originada da placa aterosclerótica em rutura. Deste modo, as duas formas (a complexada e a não complexada com a proMBP) podem ser identificadas na circulação de um doente com SCA, embora seja a forma não complexada que está aumentada e que constitui um marcador de rutura da placa. ⁽⁷⁾

A PAPP-A encontra-se marcadamente elevada nas primeiras horas do início dos sintomas em doentes com EMCS DST tratados com heparina e intervenção coronária percutânea primária (PCI). ^(18,23) Através dos escassos estudos que avaliaram a cinética da PAPP-A, verifica-se que os níveis acima do intervalo de referência são variáveis em doentes com SCA. No entanto, sabe-se que os níveis podem estar aumentados após 1 a 2 horas do início dos sintomas. ^(7,127)

Uma vez que a rutura física da placa aterosclerótica precede o desenvolvimento da isquemia do miocárdio e, posteriormente, necrose, a PAPP-A poder servir como marcador precoce para o diagnóstico de SCA. ⁽⁷⁾

Num estudo caso-controlo, os níveis de PAPP-A circulante eram superiores nos doentes com AI ou EM do que nos doentes com angina estável ou nos indivíduos do grupo controlo. ^(7,104) *Bayes- Genis et al*, defendem que a PAPP-A é um marcador mais valioso que a CRP na identificação de doentes com SCA, principalmente numa fase mais precoce. Níveis acima de 10 mIU/L apresentaram uma sensibilidade e especificidade de 94,1% para o diagnóstico de EM e 85,0% no caso de AI. ⁽¹²⁸⁾ Também *Gururajan et al*, dosearam a PAPP-A (entre as 4 e as 6 horas após o início dos sintomas) em 485 doentes com sintomas sugestivos de SCA admitidos na unidade coronária e verificaram que com um *cutoff* de 0,55 µg/ml, este biomarcador apresentava uma sensibilidade de 90% e especificidade de 85% para o diagnóstico de SCA, tendo por isso concluído que a PAPP-A poderá vir a desempenhar um papel muito importante no diagnóstico desta síndrome. ⁽¹²⁹⁾ No entanto, *Iversen et al*, em 2010 publicaram um estudo com o objetivo de investigar se a PAPP-A estava presente em placas vulneráveis e concluíram que a elevação da PAPP-A circulante em doentes com SCA era causada, aparentemente, pela

heparina que induz a libertação de PAPP-A da parede arterial e não devido à rutura das placas instáveis. ⁽¹³²⁾

Um estudo em 136 doentes, numa unidade de urgência com queixas de dor torácica, revelou que a PAPP-A em doentes com AI e EM pode ser uma variável independente para futuros eventos cardíacos isquémicos bem como para necessidade de PCI ou *bypass* da artéria coronária. ⁽⁸⁾

Num estudo prospetivo com doentes que tinham resultados negativos para a cTnI, mas diagnóstico final de SCA, os níveis aumentados de PAPP-A estavam associados a um risco de 2,3 superior para mortalidade cardiovascular, EM não fatal ou revascularização dentro de 6 meses. ^(100,119) Num outro estudo de coorte com 200 doentes com suspeita de SCA e resultados negativos para as troponinas, níveis de PAPP-A (>2,9 mIU/L), doseados nas primeiras 24 horas após a admissão, mostraram estar associados de forma independente com *outcomes* negativos aos 6 meses de *follow-up*. ⁽¹²⁷⁾ A mesma associação a piores prognósticos verificou-se no estudo CAPTURE, onde doentes com SCA (205 com EM e 342 com AI) e valores >12,6 mIU/L apresentaram maior risco de morte ou EM durante os 6 meses de *follow-up*. ⁽¹²⁷⁾ Bonaca *et al*, num estudo com 3,782 doentes com EMSSDST concluíram que aplicando um *cutoff* de 6,0 µIU/ml, os doentes com níveis > 6,0 µIU/ml tinham taxas de morte cardiovascular ou EM superiores aos 30 dias (RR=2,01) e ao fim de 1 ano (RR=1,63), mostrando, desta forma que a PAPP-A se relaciona de forma independente com o risco a curto e longo prazo de morte e eventos isquémicos recorrentes em doentes com EMSSDST. ⁽¹³³⁾

Técnicas de Quantificação

Método ELISA. (limite de deteção: 0,06 mU/L) ⁽¹²⁷⁾

A investigação atual tem sido baseada em sistemas de imunoensaios que dependem de dois anticorpos (anticorpo de captura e anticorpo de deteção) usados no reconhecimento específico dos epítomos no antigénio PAPP-A. ⁽¹²⁷⁾ (Figura 3.11)

Valores de Referência

0,40 – 1,04 mU/L ^(7,127)

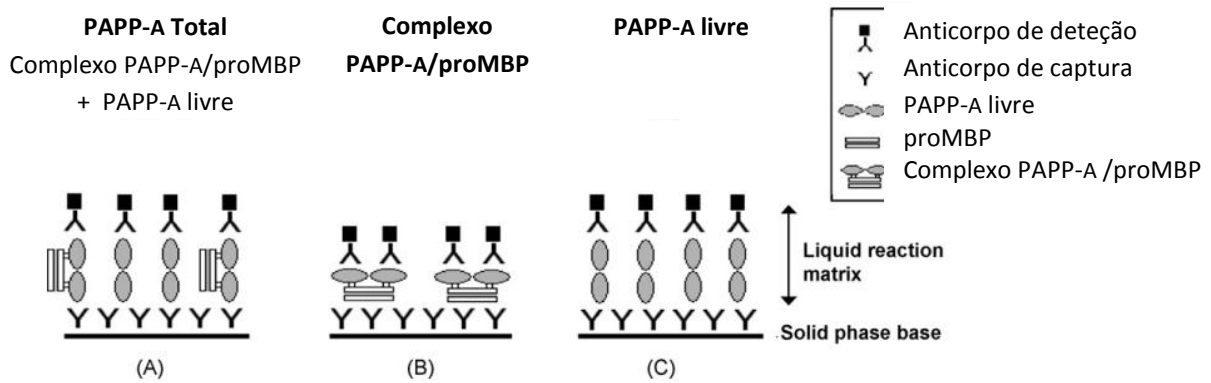


Figura 3.11 - A proteína A associada à gestação (PAPP-A) é frequentemente analisada usando imunossaios que empregam o formato "sandwich". Um anticorpo é empregado numa fase sólida de um tipo de plástico, por exemplo. O anticorpo de detecção que é marcado com uma enzima ou molécula fluorocrômica ao qual depois se liga o antígeno capturado. A maior parte dos testes de detecção deteta a PAPP-A total: (A) PAPP-A livre e o complexo PAPP-A /proMBP. (B) Ensaio que mede especificamente o complexo PAPP-A /proMBP e que depois em conjunto com o teste da PAPP-A total fornece a PAPP-A livre. (C) Ensaio direto para a PAPP-A livre para investigar doenças cardiovasculares (Adaptado de *Consuegra-Sanche et al,2009*).

Ligando solúvel CD40 (sCD40L)

O ligando CD40 (CD40L) é uma proteína transmembranar de tipo I de, aproximadamente, 50 KDa. A sua terminação C contém um domínio homólogo ao do TNF para a ligação ao recetor CD40. O CD40L é expresso nas membranas das plaquetas em resposta à ativação das plaquetas e das células endoteliais. A consequente clivagem pelas metaloproteínases produz o CD40L solúvel (sCD40L), um fragmento de 18 KDa.^(134–136) O sCD40L circulante deriva, em grande medida, das plaquetas ativadas e tem atividade biológica que pode desencadear reações inflamatórias nas células do endotélio vascular através da secreção de citocinas. O CD40 ligado à membrana e o sCD40L interagem com o recetor CD40, que está presente em células B mas também em monócitos, macrófagos e células endoteliais e de músculo liso nos ateromas, conduzindo à libertação de MMPs e consequente desestabilização da placa. A libertação do fator tecidual ativa as plaquetas que produzem mais sCD40L, perpetuando o ambiente inflamatório e protrombótico na vasculatura. Tanto o CD40 ligado à membrana como a sua forma solúvel interagem com o CD40 resultando numa série de reações vasculares através do aumento da produção de moléculas de adesão, citocinas, metaloproteínases e fator tecidual.^(8,119,135,137) (Figura 3.12)

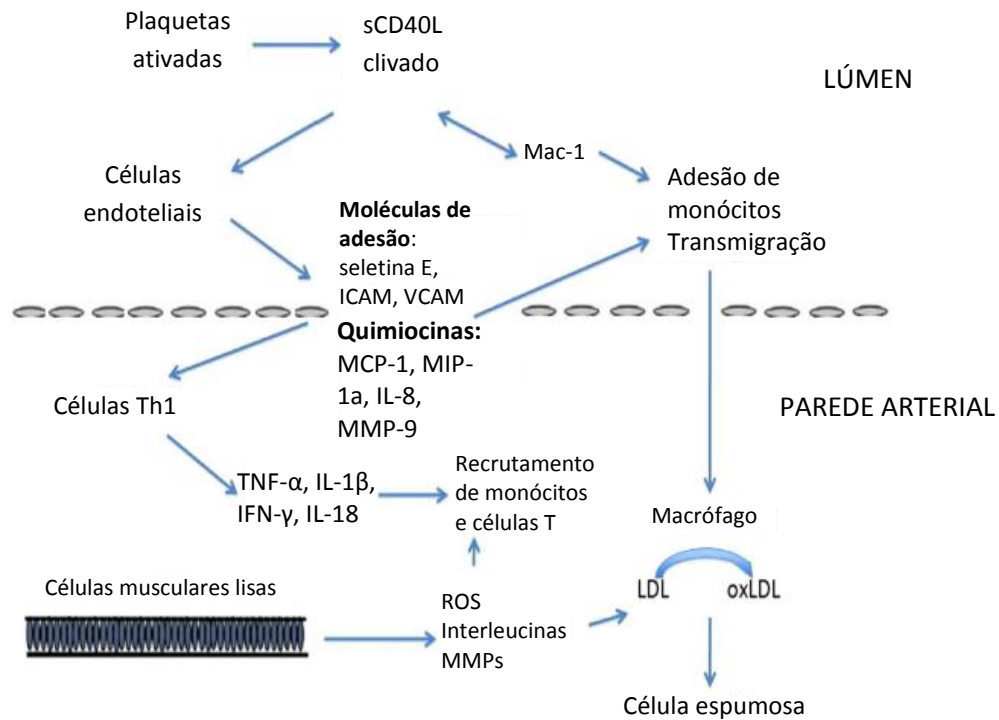


Figura 3.12 - A ligação ao CD40 desencadeia vários processos inflamatórios, incluindo a expressão de moléculas de adesão de células vasculares (VCAM-1), seletina E e moléculas de adesão intercelular (ICAM-1). MCP-1: proteína quimiotática de monócitos; MIP-1a: proteína inflamatória de macrófagos; IFN- γ : interferon gama. oxLDL: lipoproteínas de baixa densidade oxidadas. (Adaptado de *Tousoulis et al, 2010*)

O aumento das concentrações de sCD40L tem sido associado a vários distúrbios inflamatórios (doenças auto-imunes, esclerose múltipla,...) bem como a AVCs, hipercolesterolemia e diabetes. ^(8,18,135)

O aumento da regulação do sistema CD40L-CD40 pode ter também um papel importante no despoletar da SCA. O aumento do sCD40L tem sido encontrado em doentes com EM ou AI como consequência de procedimentos como a intervenção coronária percutânea. ⁽⁸⁾

Dados recentes sugerem que elevados níveis de sCD40L não representam apenas um fator de risco cardiovascular, mas constituem também um fator preditivo de futuros eventos adversos, sobretudo em doentes com SCA. Também várias abordagens terapêuticas como as estatinas, agentes anti-hipertensivos e antiplaquetários têm sido sugeridos como moduladores dos níveis de CD40L com impacto positivo nos doentes com SCA. A ligação entre CD40/CD40L e a doença cardiovascular tem sido estabelecida em numerosos artigos que têm demonstrado o aumento da expressão do CD40 em placas ateroscleróticas instáveis e propensas à rutura. O aumento dos níveis

de sCD40L tem sido associado a um risco superior de eventos adversos *major* em doentes com SCA. ⁽¹³⁵⁻¹³⁸⁾

Num estudo de coorte com 195 casos de SCA e controlos, verificou-se que a mediana das concentrações de sCD40L nos doentes foi significativamente mais elevada (0,78 µg/L) que nos controlos (0,52 µg/L). Neste mesmo estudo também se verificou que o aumento do sCD40L está relacionado com o maior risco de eventos cardíacos recorrentes e que a sua combinação com a troponina I melhora a estratificação do risco para EM e morte. ⁽⁸⁾

Yan et al dosearam o sCD40L em 128 doentes com SCA e classificaram os doentes em três grupos conforme os níveis de sCD40L. O primeiro grupo apresentava valores entre os 2,0 e os 5,0 ng/ml, o segundo grupo tinha valores entre os 5,0 e os 8,0 ng/ml e o terceiro grupo apresentava valores superiores a 8,0 ng/ml. Ao fim de 30 dias e 6 meses de *follow up*, as taxas de eventos adversos *major* foram significativamente superiores no segundo e terceiro grupos. De salientar que este estudo mostrou que a avaliação do sCD40L em combinação com a cTnT permitiu identificar doentes com alto risco de eventos adversos *major* que não seriam detetados apenas através da troponina. ⁽¹³⁸⁾

(Figura 3.13)

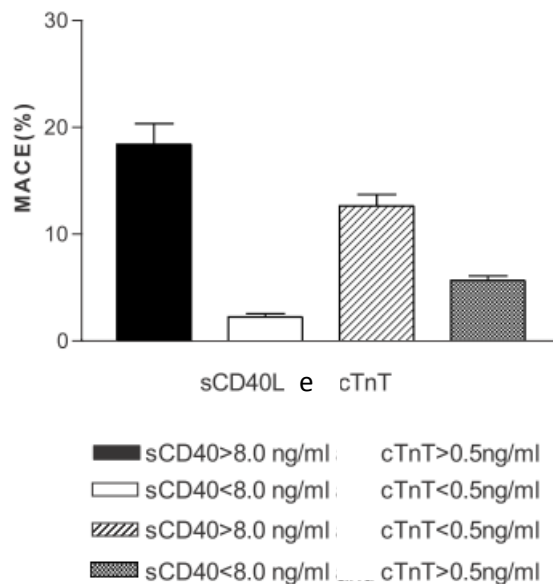


Figura 3.13 - Avaliação combinada do sCD40L e cTnT para a estratificação do risco. MACE: Eventos cardíacos adversos *major* (Adaptado de *Yan et al*, 2004)

Atualmente é amplamente aceite que, num futuro próximo, será possível recorrer rotineiramente à imagiologia molecular em laboratórios de medicina nuclear, tanto para diagnóstico como prognóstico, bem como para avaliação das estratégias terapêuticas, nomeadamente as que são baseadas na genética.⁽¹³⁵⁾

Técnicas de Quantificação

O doseamento do sCD40L é efetuado através do método ELISA (limite de deteção: 0,095 ng/ml).⁽⁸⁾

Tubos com heparina, citrato e EDTA são os recomendados para colheita da amostra uma vez que a coagulação prolongada do soro pode causar a ativação de plaquetas e sobrestimação do sCD40L circulante, originando falsos positivos. A remoção das plaquetas através da centrifugação a 2000g é crucial para a precisão da análise do sCD40L.⁽⁸⁾

Valores de Referência

Num grupo de 40 dadores de sangue, as concentrações de sCD40L estavam entre 0,03 e 3,98 µg/L. Em doentes com dor torácica e diagnóstico de SCA as concentrações de sCD40L estão entre os 3,19 – 5,87 µg/L. Em doentes com dor torácica mas sem evidência de doença cardíaca, os níveis situaram-se entre os 0,88 – 1,76 µg/L.⁽⁸⁾

Colina

A colina é o principal produto enzimático da fosfolipase D^(13,15,49,139,140), que se acredita desempenhar um papel importante na evolução fisiopatológica da SCA por contribuir para a desestabilização da placa de ateroma e promover a ativação e agregação plaquetária.^(8,139,140)

A ativação da fosfolipase D nas placas coronárias causa a estimulação de macrófagos pelas oxLDL, secreção de MMP e ativação de plaquetas.^(8,49) A Figura 3.14 esquematiza a fisiopatologia da colina na SCA, particularmente na instabilidade da placa.

<p>Biosíntese por transmetilação da etanolamina Formação após degradação de fosfolípidos</p>
<p>Principais vias de eliminação da colina <i>Uptake</i> pelo fígado, rins, pulmões, glândula adrenal, tecidos neuronais e outros tecidos A níveis endógenos, a fração renal excretada é baixa (1%) devido a reabsorção tubular e transporte tubular bidirecional O metabolismo e a <i>clearance</i> renal aumentam se os níveis plasmáticos da colina também aumentarem <i>Uptake</i> pelas células sanguíneas através de um transportador de alta afinidade</p>

Tem sido proposto que a colina no sangue total é um biomarcador superior para a avaliação da desestabilização da placa, relativamente à colina no plasma. No entanto, colocou-se a hipótese de a colina no plasma poder ser útil para avaliar a isquemia do miocárdio uma vez que é inicialmente libertada no plasma sofrendo depois um *uptake* nas células do sangue.^(139,140) Entretanto, atualmente dados clínicos sugerem que a colina no plasma não é um marcador sensível nem para a isquemia do miocárdio *minor*, nem transitória embora possa estar aumentada em formas severas de isquemia tecidual global onde a totalidade da colina libertada para o plasma é suficiente para distinguir níveis basais de níveis patológicos.⁽¹⁴⁰⁾

A Tabela 3.9 inclui os potenciais mecanismos que conduzem a um aumento da colina na SCA.

Tabela 3.9 - Mecanismos que conduzem a um aumento da colina em SA. (Adaptado de Danne & Mockel, 2010)

Mecanismos que conduzem a um aumento da colina em SCA
<p>Fatores relacionados com placas ateroscleróticas vulneráveis e trombos Atividade da PLD e secreção de MMP relacionada com a rutura da placa Geração de vários percursores de fosfolípidos relacionados com a rutura da placa coronária e formação de trombos PA e ácido lisofosfatídico) Ativação da plaqueta – PLD pela trombina e colagénio Promoção de fibrinogénio ligado ao recetor GPIIb/IIIa pelo PA Ativação da PLD dos macrófagos pela LDL oxidada Alterações na expressão da PLD nos macrófagos co-localizados com LDL oxidada Ativação da PLD e disfunção endotelial Aumento do metabolismo da colina e <i>uptake</i> pelo sistema monócitos-macrófagos na placa instável Aumento da atividade PLD-leucócitos na inflamação Disfunção mitocondrial com disrupção da via da colina desidrogenase na resistência à insulina associada com progressão e instabilidade da placa aterosclerótica</p>

Fatores relacionados com isquemia e reperfusão

Lesão isquêmica da membrana e quebra fosfolipídica

Ativação da fosfolipase A2 citosólica na isquemia e reperfusão

Ativação do α adrenoreceptor miocárdial conduzindo a aumento da atividade PLD

Para avaliar o valor diagnóstico e prognóstico da colina, *Body et al* seguiram durante um ano 361 doentes com suspeita de SCA. A diferença entre os níveis plasmáticos da colina nos doentes com EM e nos doentes sem EM não foi estatisticamente significativa (9,79 $\mu\text{mol/l}$ vs 9,37 $\mu\text{mol/l}$, $p=0,67$). A análise ROC (AUC=0,48) confirma que os níveis plasmáticos da colina não são, neste coorte, um biomarcador útil no diagnóstico de EM. Relativamente ao prognóstico, usando um *cut-off* > 18,5 $\mu\text{mol/l}$ os níveis plasmáticos de colina mostraram estar relacionados com o prognóstico de morte (todas as causas), morte do foro cardíaco e EM nos próximos 6 meses. No entanto, o potencial valor prognóstico deste biomarcador ainda tem de ser, futuramente, investigado, no sentido de poder ser aplicado na estratificação de risco de doentes com SCA. ⁽¹³⁹⁾

Também *Danne et al* avaliaram 327 doentes com suspeita de SCA e ficou demonstrado que a colina no sangue tem valor preditivo para eventos tais como: a morte por causas cardíacas, paragem cardíaca não fatal, arritmias, insuficiência cardíaca e angioplastia coronária. ⁽¹⁴⁰⁾

Num outro estudo, *Danne et al*, recrutaram 327 doentes para um estudo prospetivo com suspeita de SCA e resultado negativo para as troponinas. As amostras de sangue foram obtidas após 4 a 6 horas de admissão ao serviço de urgência e novamente das 12 às 24 horas e ao final de 30 dias contactaram-se os doentes. A média de valores da colina foram superiores nos doentes com angina instável de alto risco e inferiores em doentes com dor torácica não cardíaca. O *cutoff* ótimo (>28,2 $\mu\text{mol/L}$) foi calculado pela análise ROC. Em relação ao valor prognóstico deste biomarcador em indivíduos com suspeita de SCA, verificou-se que a taxa de morte a 30 dias ou paragem cardíaca não fatal foi substancialmente superior em doentes com resultados positivos (> 28,2 $\mu\text{mol/L}$) para a colina (18,2% vs 4,4%). No grupo de indivíduos com resultados negativos para as troponinas, verificaram-se resultados semelhantes: a taxa de mortalidade em doentes com valores de colina >28,2 $\mu\text{mol/L}$ foi significativamente maior do que em indivíduos com valores inferiores a 28,2 $\mu\text{mol/L}$ (13,4% vs 2,3%). Outro aspeto importante foi

verificar que a colina detetou doentes com angina instável de alto risco com uma sensibilidade de 86,4 e especificidade de 86,2. ⁽¹⁴¹⁾

Um outro estudo acerca do valor prognóstico da colina no sangue, publicado também por *Danne et al* em 2007 e baseado em 217 doentes concluiu que, tanto a colina no sangue (OR=2,7, $p<0,009$) como a colina no plasma (OR=3,3, $p<0,03$) foram biomarcadores preditivos para eventos cardíacos tais como: morte por origem cardíaca, paragem cardíaca, intervenção coronária e EM. Ambos foram independentes da idade, género, EM prévio, fatores de risco coronários e ECG. ⁽¹⁴²⁾

Técnicas de Quantificação

A colina é uma molécula polar e não volátil, à qual falta um cromóforo, não podendo ser doseada através de imunoensaios, dado o seu pequeno tamanho e por estar presente em todas as espécies de mamíferos. ⁽¹⁴⁰⁾

A colina no plasma pode ser medida através da cromatografia líquida de alta performance acoplada à espectrometria de massa (HPLC-MS). ^(49,140) No entanto, esta técnica não está disponível em serviços de urgência. ⁽⁴⁹⁾

No caso destes biomarcadores (colina no soro, no plasma e no sangue total) os aspetos analíticos e pré-analíticos desempenham um papel particularmente relevante, na medida em que, os níveis de colina e a sua estabilidade dependem do tipo de tubos usado: os níveis de colina no plasma são 7,2% mais elevados num tubo com heparina de lítio comparado ao tubo com ácido etilenodiaminotetra-acético (EDTA). Por outro lado, os níveis plasmáticos de colina são os mesmos nas amostras colhidas com estes dois anticoagulantes. No entanto, os níveis de colina no sangue são mais elevados do que os níveis de colina no plasma, o que pode ser explicado pela atividade dos transportadores de colina nas células sanguíneas. Relativamente à estabilidade, verificou-se que o melhor anticoagulante é o EDTA. ⁽¹⁴⁰⁾

Valores de Referência

Os valores normais e os valores da colina em doentes com SCA, no plasma, no soro e no sangue total encontram-se na Tabela 3.10.

Tabela 3.10 - Valores da colina em vários grupos de indivíduos. (Adaptado de Danne & Mockel, 2010)

Grupo	Colina no plasma ($\mu\text{mol/l}$)	Colina no sangue ($\mu\text{mol/l}$)	Colina no soro ($\mu\text{mol/l}$)
Voluntários saudáveis	9,9 \pm 2,3	15,8 \pm 9,5	11,4 \pm 0,4
Homens (47-49)	9,9 \pm 2,1		
Homens (71-74)	11,0 \pm 2,5		
Mulheres (47-49)	9,0 \pm 1,9		
Mulheres (71-74)	9,9 \pm 2,3		
Dor torácica de origem não cardíaca	9,0 (7,5 – 11,3)	19,4 \pm 6,8	16,1 \pm 6,3
SCA (SSDST)	11,0 (9,0 – 11,8) AI 9,7 (7,9 – 12,0) EMSSDST	47,4 \pm 22,8 Aler 31,1 \pm 18,8 EMSSDST	33,1 \pm 8,4 SCA
EMCSDST	8,9 (7,4 – 10,8)	27,6 \pm 16,8	

SSDST: Sem supradesnivelamento do segmento ST; EMCSDST: Enfarte do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST; Aler: Angina instável de elevado risco

Os fatores associados a uma diminuição das concentrações de colina no plasma, no soro ou nas células sanguíneas são: cirurgias, lesões traumáticas na cabeça, doença celíaca, nutrição parentérica a longo prazo, corridas de maratona, algumas doenças raras; Por outro lado, alguns dos fatores que potenciam aumentos da colina são: SCA, AVC, doença renal terminal, leucemia mielóide crónica, gravidez, alguns tratamentos, como por exemplo, o lítio. ⁽¹⁴⁰⁾

3.4 Outros Biomarcadores

3.4.1 Biomarcador de Disfunção Cardíaca

Péptido Natriurético Cerebral (BNP)

As hormonas natriuréticas são uma família de péptidos vasoativos que atuam como vasodilatadores arteriais e venosos e promovem a natriurese e a diurese. ⁽¹⁴³⁾

No século XX, vários estudos demonstraram que, ao contrário do que se julgava até então, o coração não é apenas um órgão elétrico e mecânico, mas é também um órgão endócrino. ⁽¹⁴³⁾

O péptido natriurético cerebral ou péptido natriurético tipo B (BNP) é uma hormona originalmente isolada do tecido cerebral do porco que é libertada, principalmente, dos ventrículos cardíacos.^(13,15,49,50,143) O BNP circulante deriva de uma pró-hormona de 108 aminoácidos, proBNP, que é clivada dentro do miócito, dando origem a um fragmento C-terminal, ao BNP ativo e a um fragmento N-terminal da pró-hormona NT-próBNP.^(15,18,49,50,143) (Figura 3.15).

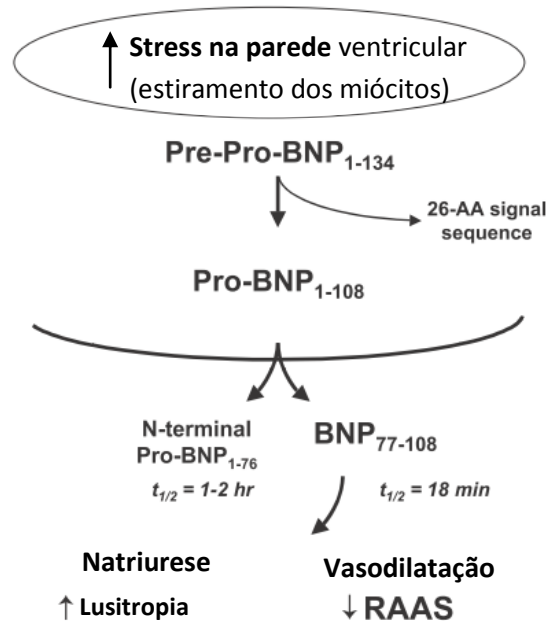


Figura 3.15 - Síntese e libertação do péptido natriurético cerebral (BNP). AA:aminoácido; RAAS: sistema renina-angiotensina-aldosterona; $t_{1/2}$:tempo de meia vida (Adaptado de Wiviott et al, 2004)

A secreção de ambos os fragmentos é aumentada pela distensão da parede ventricular e sobrecarga de volume, como acontece na insuficiência cardíaca (IC).^(15,50) O BNP e outros péptidos natriuréticos exercem os seus efeitos através de recetores acoplados à proteína G, resultando na libertação de um segundo mensageiro guanosina monofosfato cíclica. Exerce funções na regulação do sistema renina-angiotensina-aldosterona, diminuição da atividade do nervo simpático no coração e no rim, aumento do fluxo sanguíneo renal e aumento da excreção de sódio pela ação direta no ducto coletor renal.⁽⁵⁰⁾

Em indivíduos saudáveis, os níveis plasmáticos de BNP são inferiores a 100 pg/ml. No entanto, os valores de referência dependem da idade e do género: as mulheres apresentam valores superiores, assim como indivíduos em idade avançada ou com baixo

índice de massa corporal. Para além da utilidade clínica do BNP no diagnóstico da IC, outras aplicações incluem a estratificação do risco de doentes com SCA,^(13,50,144,145) monitorização da severidade da doença em doentes com doença isquémica estável, avaliação da disfunção ventricular e testar a cardiotoxicidade de fármacos.^(15,50)

No ano 2000, a FDA aprovou o primeiro teste para a deteção do BNP numa plataforma POCT.^(13,15)

O papel do BNP em doentes com SCA, no entanto, é ainda incerto.⁽⁴⁹⁾ As *guidelines* da NACB asseguram que o doseamento do BNP/NT-proBNP pode ser útil no prognóstico de doentes com SCA, mas não recomenda o seu uso rotineiro.⁽¹⁴⁵⁾

A isquemia resulta em disfunção local do miocárdio e aumento da tensão da parede ventricular. Para além disso, na sequência do EM, a necrose extensa pode causar uma redução da performance cardíaca, sintomas e sinais de disfunção ventricular. Mais tarde, a remodelação ventricular pode conduzir a progressiva dilatação e disfunção do ventrículo esquerdo. Desta forma, os péptidos natriuréticos têm a capacidade de fornecer informações sobre a fisiopatologia e *outcomes* da SCA.⁽¹⁴³⁾

Os primeiros estudos com o BPN na SCA foram estudos caso-controlo em doentes com EMCSST. Nestes, comparativamente ao grupo controlo, verificou-se que os níveis de BPN estavam elevados em doentes com EM no momento da apresentação (92 vs 28 pg/ml) e continuavam a aumentar até ao pico de 319 pg/ml, aproximadamente, 16 horas após a apresentação. No entanto, num grupo de doentes com EM mais severo, verificou-se um padrão bifásico com um segundo pico de BNP, 5 dias após a admissão hospitalar.^(143,146)

Um estudo de 2525 doentes com EMCSST, EMSSST ou AI mostrou que os níveis de BNP estão relacionados com a sobrevivência.⁽⁴⁹⁾

Juntos, o doseamento do BNP e NT-próBNP, fornecem uma base de evidência consistente e robusta de que níveis elevados de péptidos natriuréticos estão associados a taxas de mortalidade mais elevadas em indivíduos com SCA.⁽¹⁴³⁾

Os níveis de BNP podem ainda refletir o tamanho e severidade da isquemia, mesmo que ainda não tenha ocorrido necrose. Várias são as observações que suportam esta ideia: primeiro, em estudos experimentais de EM, a síntese de BNP está aumentada, não só no

tecido enfartado, mas também no tecido não enfartado; em segundo lugar, os níveis de BNP estão aumentados transitoriamente após angioplastia coronária transluminal percutânea; por último, os níveis de BNP aumentam rapidamente e transitoriamente, após o exercício em doentes com doença coronária. ⁽¹⁴⁶⁾

Qin et al afirmam, através de um estudo que incluiu um grupo de 41 doentes e outro grupo de 31 indivíduos saudáveis (grupo controlo), que os níveis de BNP estavam positivamente relacionados com o grau da estenose coronária e que os mesmos podiam ser úteis na avaliação e estratificação do risco de doentes com SCA. ⁽¹⁴⁷⁾

Gravning et al concluíram que o NT-próBNP era superior em comparação com a cTnI e cTnT no prognóstico a longo prazo, em doentes com EMSSDST. ⁽¹⁴⁸⁾

Já relativamente ao prognóstico a curto prazo, *Sanchis et al* avaliaram doentes incluídos no estudo PITÁGORAS, cujo objetivo era avaliar o papel da hs-troponina no diagnóstico da SCA em doentes com níveis normais de troponinas e definir se o BNP fornece informação adicional nestes doentes, tendo concluído que o doseamento do NT-próBNP não acrescentou informação adicional ao diagnóstico ou prognóstico (a curto-prazo). ⁽¹⁴⁹⁾

Técnicas de Quantificação

Os métodos de doseamento do BNP combinam os anticorpos monoclonais que reconhecem os diferentes epítomos: parte C-terminal, sequência do “laço” e ponte de dissulfito. A deteção pode ser posteriormente feita por quimiluminescência ou fluorescência. ⁽¹⁸⁾

Valores de Referência

0 - 99 pg/ml ⁽¹⁵⁰⁾

3.4.2 Biomarcadores de Stress

Copeptina

A copeptina é co-sintetizada com a vasopressina (representa a parte C-terminal desta hormona), ⁽¹⁵¹⁻¹⁵³⁾ também chamada de hormona antidiurética. O sistema arginina-vasopressina (AVP) participa na regulação hemodinâmica e osmótica do organismo através da regulação do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal, refletindo a resposta ao

stress.⁽¹⁵²⁻¹⁵⁴⁾ A libertação da AVP é regulada pela hiperosmolalidade, hipovolemia, hipotensão, osmoreceptores hipotalâmicos e angiotensina II.⁽¹⁵⁴⁾ A coceptina está diretamente relacionada com as concentrações plasmáticas da vasopressina em indivíduos sãos.^(18,151,153)

A coceptina é mais estável e sensível como marcador de *stress* do que a vasopressina e mais facilmente quantificada.^(18,152,153) Tem a grande vantagem de, em caso de necrose do miocárdio, a concentração aumentar mais precocemente que a troponina (primeiras 3 horas após a lesão do miocárdio)⁽¹⁵²⁾. Por outro lado, o seu elevado valor preditivo negativo permite excluir mais rapidamente o diagnóstico de EM.^(18,155)

Tem sido relatado em vários estudos que a coceptina associada as cTn permitem excluir com rapidez e segurança o EM⁽¹¹³⁻¹¹⁹⁾: *Reichlin et al* mostraram que níveis normais de coceptina e de troponinas, encontrados em doentes, excluem com um valor preditivo negativo de 99,7% o diagnóstico de SCA.⁽¹⁵²⁾ Os resultados do estudo CHOPIN (*Copeptin Helps in the early detection Of Patients with acute myocardial INfarction*)⁽¹⁵⁶⁾ também indicaram que asseguram a exclusão de EM com um valor preditivo negativo > 99%.

Segundo *Bohyn et al*, as concentrações sanguíneas de coceptina <14 pmol/L associadas a hs-TnT <14 ng/L e uma pontuação na escala de GRACE (*Global Registry of Acute Cardiac Events*) <108 permitem excluir precocemente o EMSSDST.⁽¹⁵⁵⁾

Resultados concordantes foram apresentados por *Folli et al* num estudo prospetivo com 472 doentes onde, mais uma vez o uso combinado das troponinas cardíacas com a coceptina, permitiu melhorar significativamente a exatidão do diagnóstico de SCA.⁽¹⁵²⁾ Também *Keller et al* concluíram, após a sua investigação acerca do valor diagnóstico da coceptina, que a determinação desta como marcador isolado tem valor comparável ao da mioglobina, sendo superior à troponina (pelos métodos convencionais) durante as primeiras 3 horas após o início da dor torácica. A combinação da coceptina e da cTnT melhora a performance diagnóstica para a deteção de EM comparativamente com a determinação isolada da cTnT. Em contraste, a combinação da mioglobina e cTnT fornecem menos informação.⁽¹⁵⁴⁾

Técnicas de Quantificação

As amostras de plasma são recolhidas em tubos com EDTA e o doseamento é feito através de um novo método imunoluminométrico: a técnica emprega dois anticorpos

policlonais ligados à coceptina (aminoácidos 132-164) e tem um limite de detecção de 1,7 pmol/L. O ensaio permite quantificar a coceptina entre 2,25 e 1215 pmol/L. ^(151,154)

Valores de Referência

Em indivíduos saudáveis os níveis plasmáticos de coceptina rondam os 4,2 pmol/L. (Homens: 5,2 pmol/L; Mulheres: 3,7 pmol/L)⁽¹⁵³⁾

Fator de crescimento e diferenciação 15 (GDF-15)

O fator de crescimento e diferenciação 15 (GDF-15) é um membro de uma superfamília de citocinas de fatores de crescimento β . Esta proteína pode ser induzida no coração após isquemia e lesão de reperfusão.^(159,160) A rápida indução do GDF-15 após um episódio de isquemia e reperfusão é seguida por uma prolongada expressão no miocárdio, os quais podem estar relacionados com níveis aumentados de *stress* oxidativo, inflamação e cicatrização do tecido enfartado.⁽¹⁶¹⁾ Os níveis circulantes do GDF-15 podem fornecer informações de prognóstico nos doentes com EMSSDST.⁽¹⁵⁹⁻¹⁶¹⁾

Wollert et al dosearam o GDF-15 no sangue de 2081 doentes com queixas de dor torácica com depressão do segmento ST ou elevação das troponinas e compararam os resultados com um coorte de 429 indivíduos aparentemente saudáveis. Aproximadamente 2/3 dos doentes apresentavam níveis de GDF-15 acima do limite de referência superior dos indivíduos que pertenciam ao grupo controlo (1200 ng/L) e 1/3 apresentavam níveis superiores a 1800 ng/L. Indivíduos com níveis mais elevados de GDF-15 tinham maior risco de morte ao fim de 1 ano. O valor prognóstico do GDF-15 foi independente da idade, género, consumo tabágico, diabetes, IC, níveis de NT-proBNP e atividade inflamatória (CRP), o que nos diz que os níveis de GDF-15 podem, desta forma, assumir uma importância clínica relevante, traduzindo doença cardiovascular severa e/ou pior prognóstico em doentes com EMSSDST.⁽¹⁶⁰⁾ Também *Wollert et al*, num outro estudo, com um número semelhante de participantes (2079 doentes com SCA), chegaram à mesma conclusão: O GDF-15 era uma potencial ferramenta para a estratificação do risco e decisão terapêutica em doentes com EMSSDST.⁽¹⁶¹⁾ *Khan et al* e *Eggers et al*, também, afirmam que o GDF-15 melhorava a estratificação do risco em doentes com dor torácica, proporcionando informação muito útil para o prognóstico.^(159,162)

Técnicas de Quantificação

Teste imunoradiométrico com anticorpos policlonais IgG anti-humana GDF-15. (Limite de detecção de 20 ng/L)⁽¹⁶⁰⁾

Valores de Referência

600 – 950 ng/L (normalmente <1200 ng/L)⁽¹⁶⁰⁾

A Figura 3.16 relaciona os vários tipos de biomarcadores cardíacos (alguns deles discutidos nesta dissertação) com a progressão da lesão aterosclerótica.

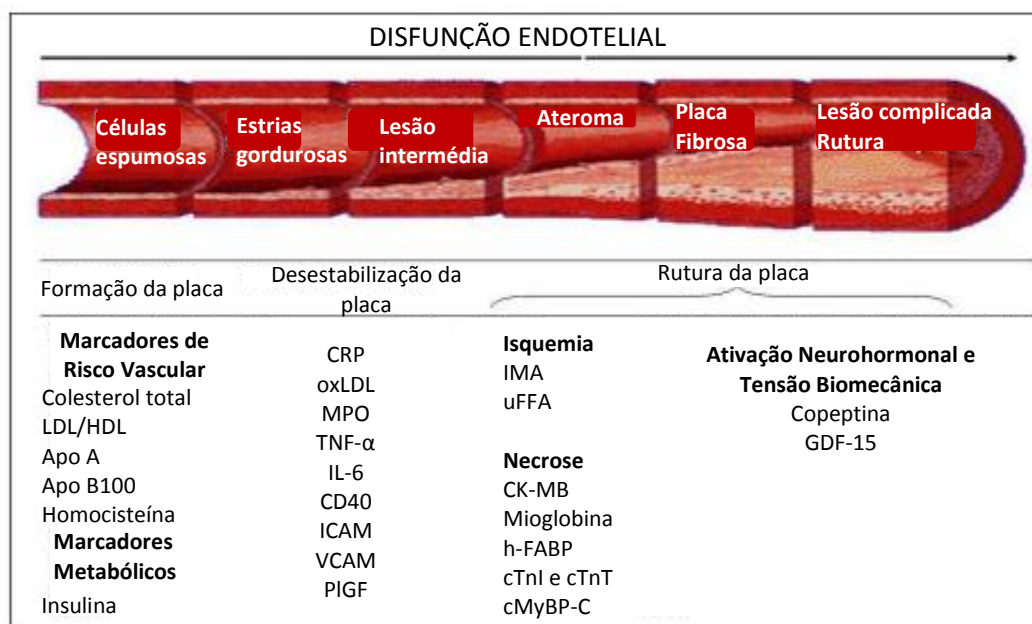


Figura 3.16 - Os biomarcadores cardíacos nas várias fases da lesão aterosclerótica. (Adaptado de Gaze, 2012)

Conclusão

Os biomarcadores cardíacos desempenham um papel importantíssimo no diagnóstico de síndromes coronárias agudas, particularmente desde a nova definição de enfarte do miocárdio, no ano 2000. Sem dúvida que, de entre todos os biomarcadores cardíacos, as troponinas cardíacas têm sido e, provavelmente serão durante os próximos tempos, o marcador de eleição no diagnóstico de enfartes do miocárdio. Este papel tem vindo a ser realçado pelas *guidelines* de consenso do Colégio Americano de Cardiologia e da Sociedade Europeia de Cardiologia (ACC/ESC) e pelas atualizações à definição de enfarte do miocárdio em 2007 e, mais tarde, em 2012.

No entanto, a investigação continua no sentido de encontrar o biomarcador ideal que ofereça capacidade de diagnóstico precoce, com elevada sensibilidade e especificidade.

Se, até há aproximadamente uma década, a discussão em torno dos biomarcadores cardíacos era limitada à CK-MB, AST e LD, enzimas libertadas pelo miocárdio necrótico, hoje em dia, vários marcadores cardíacos têm sido estudados para providenciar informações acerca da fisiopatologia, diagnóstico e prognóstico da SCA.

Os biomarcadores podem fornecer, essencialmente, três tipos de informação nos doentes com síndrome coronária aguda. Primeiro, os biomarcadores podem ser úteis no diagnóstico imediato da doença. Por exemplo, a elevação das troponinas cardíacas, no contexto clínico adequado, podem definir o diagnóstico de enfarte agudo do miocárdio. Em segundo lugar, os biomarcadores podem ajudar na estratificação do risco. Esta estratificação do risco pode incluir o risco de eventos adversos futuros, nomeadamente, a curto, médio ou longo prazo. Neste ponto, os biomarcadores de inflamação têm tido maior destaque, como é o caso da mieloperoxidase (MPO) e o ligando CD40 solúvel (sCD40L) constituem marcadores robustos para o risco a curto prazo e podem também ser considerados como marcadores de risco independentes na estratificação de risco de doentes com enfarte do miocárdio com supradesnivelamento do segmento ST (EMSSDST). Apesar de existirem numerosos biomarcadores de inflamação emergentes, o papel e utilidade clínica de cada um na síndrome coronária aguda, nomeadamente no desenvolvimento e progressão da doença ainda não está totalmente esclarecido. Ensaios clínicos aleatorizados, em grande escala, no futuro, podem providenciar informação

mais fiável e evidências da verdadeira utilidade destes biomarcadores. Por último, os biomarcadores podem ajudar a direcionar a decisão terapêutica.

O conhecimento das vantagens e limitações dos biomarcadores atualmente utilizados na prática clínica para o diagnóstico da SCA, bem como o estudo e a exploração de potenciais novos biomarcadores cardíacos, como os que foram analisados nesta dissertação, poderão permitir à comunidade médica criar, eventualmente, uma cassette de multimarcadores adaptada a plataformas POCT que conjuga as potencialidades de cada um permitindo um diagnóstico mais fiável, uma rápida estratificação do risco e a escolha da abordagem terapêutica mais efetiva.

Bibliografia

1. Crawford MH, DiMarco JP, Paulus WJ. *Cardiology*. 2nd ed. Filadélfia: Elsevier Ltd; 2004. p. 213–395.
2. Topol EJ, editor. *Textbook of Cardiovascular Medicine*. 3rd ed. Filadélfia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
3. Fuster V, Alexander RW, O'Rourke RA, editors. *The Heart*. 10th ed. Hurst's vol1. McGraw-Hill; 2001. p. 1065–372.
4. Townsend N, Wickramasinghe K, Bhatnagar P, Smolina K, Nichols M, Leal J, et al. *Coronary heart disease statistics. A compendium of health statistics*. London: British Heart Foundation; 2012.
5. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. *Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association*. *Circulation* [Internet]. 2012 Jan 3 [cited 2013 Oct 17];125(1):e2–e220. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22179539>
6. Nichols M., Townsend N., Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Scarborough P RM. *European Cardiovascular Disease Statistics*. European society of Cardiology; 2012.
7. Qin Q-P, Wittfooth S, Pettersson K. *Measurement and clinical significance of circulating PAPP-A in ACS patients*. *Clin. Chim. Acta*. [Internet]. 2007 May 1 [cited 2014 Jan 4];380(1-2):59–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17376420>
8. Apple FS, Wu AHB, Mair J, Ravkilde J, Panteghini M, Tate J, et al. *Future Biomarkers for Detection of Ischemia and Risk Stratification in Acute Coronary Syndrome*. *Clin. Chem*. 2005;51(5):810–24.
9. Lippi G, Montagnana M, Salvagno GL, Guidi GC. *State of the art. Potential value for new diagnostic markers in the early recognition of acute coronary syndromes*. *Can. J. Emerg. Med*. 2006;8(1):27–31.
10. Kehl DW, Iqbal N, Fard A, Kipper B a, De La Parra Landa A, Maisel AS. *Biomarkers in acute myocardial injury*. *Transl. Res*. [Internet]. Mosby, Inc.; 2012 Apr [cited 2013 Dec 11];159(4):252–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22424429>
11. Wiviott SD, Braunwald E. *Unstable Angina and Non–ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: Part I. Initial Evaluation and Management, and Hospital Care*. *Am. Fam. Physician*. 2004;70(3):525–32.
12. Lewandrowski K, Chen A, Januzzi J. *Cardiac Markers for Myocardial Infarction A Brief Review*. 2002;118(Suppl 1):93–9.

13. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Elsevier Saunders; 2006. p. 1619 – 1660.
14. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz. Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 5th ed. Missouri: Elsevier; 2012. p. 1457–510.
15. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. Tietz. Fundamentals of Clinical Chemistry. 6th ed. Sawyer BG, editor. Missouri: Elsevier; 2008. p. 614–30.
16. Khan I a, Wattanasuwan N. Role of biochemical markers in diagnosis of myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. 2005 Sep 30 [cited 2013 Jun 22];104(2):238–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16168823>
17. Ramrakha P, Hill J. Manual Oxford de Cardiologia. 2nd ed. Edições Médicas; 2012. p. 211–308.
18. Beaudoux J-L, Durand G. Biochimie médicale. 12th ed. Marqueurs actuels Perspect. Paris: Médecine Sciences Publications; 2008. p. 167–206.
19. Mohan H. Textbook Of Pathology. 6th ed. New-Delhi: Jaypee Brothers; 2010. p. 390–437.
20. Deckers JW. Classification of myocardial infarction and unstable angina: A re-assessment. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013 Feb 2 [cited 2013 Jun 22];8–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23384481>
21. Porth CM. Essentials of Pathophysiology: Concepts of Altered Health States. 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins; 2010. p. 319–410.
22. Fauci A, Braunwald E, Kasper D, Al E. Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th ed. McGraw-Hill; 2005.
23. Lakshmanadoss U, editor. Novel Strategies in Ischemic Heart Disease. Rijeka: InTech; 2012. p. 17–62.
24. Guyton AC, Hall JE. Tratado de Fisiologia Médica. 10th ed. Guanabara Koogan; 2002.
25. Rodrigues V, Ferreira R, Neves R. Portugal - Doenças Cerebro-vasculares em números. *Direção Geral da Saúde.* 2013;4–18.
26. Lei n.º 37/2007 de 14 de Agosto. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 156 — 14 Agosto 2007. 2007;5277–85.
27. Lei 75/2009 de 12 de Agosto de 2009. *Diário da República*, 1.ª série — N.º 155 — 12 Agosto 2009. 2009;5225–6.

28. Seeley RR, Stephans TD, Tate P. *Anatomia e Fisiologia*. 6th ed. McGraw-Hill; 2003.
29. Brizzio ME. *Acute Coronary Syndromes*. Rijeka: InTech; 2012. p. 27–74.
30. Mello e Silva A. *ATEROSCLEROSE : Doença Sistêmica com Manifestações Focais. Fatores de Risco*. 2007;(6):40–5.
31. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler a. B, Glagov S, Insull W, Richardson M, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis- prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association [Internet]. *Circulation*. 1992 Jan p. 391–405. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.85.1.391>
32. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Jr WI, et al. A Definition of Advanced Types of Atherosclerotic Lesions and a Histological Classification of Atherosclerosis Atherosclerotic Lesion Types Advanced by Histology Type IV Lesions [Internet]. *Circulation*. 1995 p. 1355–74. Available from: <http://circ.ahajournals.org/content/92/5/1355.long>
33. Stary HC, Chandler a. B, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association [Internet]. *Circulation*. 1994 May p. 2462–78. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.89.5.2462>
34. Burt BA. Definitions of risk. *J. Dent. Educ.* [Internet]. 2001 Oct;65(10):1007–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11699970>
35. Scheuner MT. Genetic evaluation for coronary artery disease. *Genet. Med.* [Internet]. 2003 [cited 2013 Nov 22];5(4):269–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12865756>
36. Andrés E, León M, Cordero A, Magallón Botaya R, Magán P, Luengo E, et al. Cardiovascular Risk Factors and Lifestyle Associated With Premature Myocardial Infarction Diagnosis. *Rev. Española Cardiol. (English Ed.* [Internet]. 2011 Jun [cited 2013 Jun 22];64(6):527–9. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1885585710000770>
37. Escobar E. Hypertension and coronary heart disease. *J. Hum. Hypertens.* 2002;16:61–3.
38. World Health Organisation. *Prevention of Cardiovascular Disease - Guidelines for assessment and management of cardiovascular risk*. 2007. p. 28–41.
39. Williams B, Poulter NR, Brown MJ, Davis M, McInnes GT, Potter JF, et al. *Guidelines for management of hypertension: report of the fourth working party of*

- the British Hypertension Society [Internet]. *J. Hum. Hypertens.* 2004 Mar p. 139–85. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14973512>
40. Grundy SM, Benjamin IJ, Burke GL, Chait a., Eckel RH, Howard B V., et al. Diabetes and Cardiovascular Disease : A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* [Internet]. 1999 Sep 7 [cited 2013 Nov 8];100(10):1134–46. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.100.10.1134>
 41. Vaz da Silva MJL, Nogueira AP. Stress e doença coronária. Universidade do Porto; 2010.
 42. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2012 Oct [cited 2013 Dec 12];33(20):2551–67. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22922414>
 43. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, editors. *Medicina Interna*. 18th ed. McGraw-Hill; 2013. p. 1998–2034.
 44. Achar S a, Kundu S, Norcross W a. Diagnosis of acute coronary syndrome. *Am. Fam. Physician* [Internet]. 2005 Jul 1;72(1):119–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16035692>
 45. Follin SA, Munden J, editors. *Interpreting Difficult ECG's - A Rapid Reference*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2006.
 46. Houghton AR, Gray D. *Making Sense of the ECG*. 3rd ed. HODDER ARNOLD; 2008.
 47. Myocardial Infarction Redefined — A Consensus Document of The Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the Redefinition of Myocardial Infarction The Joint European Society of Cardiology / American College of Card. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2000;36(3).
 48. Altar C a. The Biomarkers Consortium: on the critical path of drug discovery. *Clin. Pharmacol. Ther.* [Internet]. 2008 Feb;83(2):361–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18183037>
 49. Gaze D. *Coronary Artery Disease – Current Concepts in Epidemiology , Diagnostics and Treatment*. Rijeka: InTech; 2012. p. 103–20.
 50. Mcpherson RA, Pincus MR. *Henry's Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods*. 22nd ed. Elsevier Saunders; 2011. p. 249 – 258.
 51. Anderson JL, Adams CD, Antman EM, Bridges CR, Califf RM, Casey DE, et al. 2011 ACCF/AHA Focused Update Incorporated Into the ACC/AHA 2007 Guidelines for the Management of Patients With Unstable Angina/Non-ST-Elevation Myocardial Infarction: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Tas. *Circulation* [Internet]. 2011 May

- 10 [cited 2013 May 24];123(18):e426–579. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21444888>
52. Robinson DJ, Christenson RH. Creatine Kinase and its CK-MB isoenzyme: The conventional marker for the diagnosis of acute myocardial infarction. 1999;17(1):95–104.
53. Nissen NI, Ranlov P, Weis-Fogh J. Evaluation of Four Different Serum Enzymes in the Diagnosis of Acute Myocardial Infarction. *Br. Heart J.* [Internet]. 1965 Jul;27(1962):520–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=503341&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
54. Ravel R. Laboratório clínico. 6th ed. Guanabara Koogan; 1995. p. 291 – 300.
55. Jorgensen CR, Zimmerman TS, Wang Y. Serum Lactate Dehydrogenase Elevation in Ambulatory Cardiac Patients: Evidence for Chronic Hemolysis. *Circulation* [Internet]. 1967 Jan 1 [cited 2013 Dec 12];35(1):79–89. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.35.1.79>
56. Galbraith L V, Leung FY, Jablonsky G, Henderson a R. Time-related changes in the diagnostic utility of total lactate dehydrogenase, lactate dehydrogenase isoenzyme-1, and two lactate dehydrogenase isoenzyme-1 ratios in serum after myocardial infarction. *Clin. Chem.* [Internet]. 1990 Jul;36(7):1317–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2372944>
57. Rotenberg Z, Weinberger I, Sagie a, Fuchs J, Sperling O, Agmon J. Lactate dehydrogenase isoenzymes in serum during recent acute myocardial infarction. *Clin. Chem.* [Internet]. 1987 Aug;33(8):1419–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3608159>
58. Yang Z, Min Zhou D. Cardiac markers and their point-of-care testing for diagnosis of acute myocardial infarction. *Clin. Biochem.* [Internet]. 2006 Aug [cited 2013 Jun 10];39(8):771–80. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16836992>
59. Silva DP, Landt Y, Porter SE, Ladenson JH. Development and application of monoclonal antibodies to human cardiac myoglobin in a rapid fluorescence immunoassay. *Clin. Chem.* [Internet]. 1991 Aug;37(8):1356–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1714361>
60. Mair J, Genser N, Morandell D, Maier J, Mair P, Lechleitner P, et al. Cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial injury and infarction. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 1996 Feb 9;245(1):19–38. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9823862>
61. Alyanakian M a, Dehoux M, Chatel D, Seguret C, Desmonts JM, Durand G, et al. Cardiac troponin I in diagnosis of perioperative myocardial infarction after cardiac surgery. *J. Cardiothorac. Vasc. Anesth.* [Internet]. 1998 Jun;12(3):288–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9636910>

62. Eggers KM, Venge P, Lindahl B. High-sensitive cardiac troponin T outperforms novel diagnostic biomarkers in patients with acute chest pain. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. Elsevier B.V.; 2012 Jul 11 [cited 2014 Mar 30];413(13-14):1135–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22456003>
63. Thygesen K, Mair J, Giannitsis E, Mueller C, Lindahl B, Blankenberg S, et al. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2012 Sep [cited 2014 Mar 21];33(18):2252–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22723599>
64. Reagan WJ. Troponin as a biomarker of cardiac toxicity: past, present, and future. *Toxicol. Pathol.* [Internet]. 2010 Dec [cited 2014 Mar 30];38(7):1134–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20884820>
65. Bodor SG, Porter S, Landt Y, Ladenson JH. Development of Monoclonal Antibodies for an Assay of Cardiac Troponin I and Preliminary results in suspected cases of Myocardial Infarction. *Clin. Chem.* 1992;38(11):2203–14.
66. Panteghini M, Willie G, Apple FS, Dati F, Ravkilde J, Wu AH. Quality specifications for cardiac troponin assays. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2001;39(2):174–8.
67. Laboratories A. Ficha Técnica ACHITECT System STAT Troponin-I. Middletown: Abbott Laboratories; 2010. p. 1–9.
68. Bingisser R, Cairns C, Christ M, Hausfater P, Lindahl B, Mair J, et al. Cardiac troponin: a critical review of the case for point-of-care testing in the ED. *Am. J. Emerg. Med.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012 Oct [cited 2013 Dec 21];30(8):1639–49. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22633720>
69. Nichols JH, editor. NACB:Laboratory Medicine Practice Guidelines. Evidence-based practice for Point of care testing. American Association for Clinical Chemistry; 2006. p. 13–7.
70. Thygesen K, Mair J, Katus H, Plebani M, Venge P, Collinson P, et al. Recommendations for the use of cardiac troponin measurement in acute cardiac care. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2010 Sep [cited 2014 Mar 19];31(18):2197–204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20685679>
71. Gassenmaier T, Buchner S, Birner C, Jungbauer CG, Resch M, Debl K, et al. High-sensitive Troponin I in acute cardiac conditions: implications of baseline and sequential measurements for diagnosis of myocardial infarction. *Atherosclerosis* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2012 May [cited 2013 Jun 22];222(1):116–22. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22405442>
72. Hamm CW, Bassand J-P, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, et al. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without

- persistent ST-segment elevatio. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2011 Dec [cited 2014 Mar 20];32(23):2999–3054. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21873419>
73. Gururajan P, Gurumurthy P, Nayar P, Srinivasa Nageswara Rao G, Babu S, Cherian KM. Heart fatty acid binding protein (H-FABP) as a diagnostic biomarker in patients with acute coronary syndrome. *Heart. Lung Circ.* [Internet]. 2010 Nov [cited 2013 Dec 9];19(11):660–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20674495>
74. Haltern G, Peiniger S, Bufe A, Reiss G, Gülker H, Scheffold T. Comparison of usefulness of heart-type fatty acid binding protein versus cardiac troponin T for diagnosis of acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010 Jan 1 [cited 2013 Dec 9];105(1):1–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20102882>
75. Freund Y, Chenevier-Gobeaux C, Leumani F, Claessens Y-E, Allo J-C, Doumenc B, et al. Heart-type fatty acid binding protein and the diagnosis of acute coronary syndrome in the ED. *Am. J. Emerg. Med.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012 Oct [cited 2013 Dec 9];30(8):1378–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22169585>
76. Ecollan P, Collet J-P, Boon G, Tanguy M-L, Fievet M-L, Haas R, et al. Pre-hospital detection of acute myocardial infarction with ultra-rapid human fatty acid-binding protein (H-FABP) immunoassay. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. 2007 Jul 31 [cited 2013 Dec 9];119(3):349–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17097752>
77. Gaze DC. Review Ischemia Modified Albumin : A Novel Biomarker for the Detection of Cardiac Ischemia. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2009;24(4):333–41.
78. Anwaruddin S, . JLJ, Baggish AL, Lewandrowski EL, Lewandrowski KB. Ischemia-Modified Albumin Improves the Usefulness of Standard Cardiac Biomarkers for the Diagnosis of Myocardial Ischemia in the Emergency Department Setting. *Am. J. Clin. Pathol.* [Internet]. 2005 Jan 1 [cited 2013 Dec 20];123(1):140–5. Available from: <http://ajcp.ascpjournals.org/cgi/doi/10.1309/4BCTG5UCYMQFWBLR>
79. Gravning J, Kjekshus J. The perfect biomarker in acute coronary syndrome: a challenge for diagnosis, prognosis, and treatment. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2008 Dec [cited 2014 Mar 28];29(23):2827–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18957473>
80. Peacock F, Morris DL, Anwaruddin S, Christenson RH, Collinson PO, Goodacre SW, et al. Meta-analysis of ischemia-modified albumin to rule out acute coronary syndromes in the emergency department. *Am. Heart J.* [Internet]. 2006 Aug [cited 2013 Dec 20];152(2):253–62. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16875905>

81. Van Belle E, Dallongeville J, Vicaut E, Degrandart A, Baulac C, Montalescot G. Ischemia-modified albumin levels predict long-term outcome in patients with acute myocardial infarction. The French Nationwide OPERA study. *Am. Heart J.* [Internet]. Mosby, Inc.; 2010 Apr [cited 2013 Dec 20];159(4):570–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20362714>
82. Hjortshøj S, Kristensen SR, Ravkilde J. Diagnostic value of ischemia-modified albumin in patients with suspected acute coronary syndrome. *Am. J. Emerg. Med.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010 Feb [cited 2013 Dec 20];28(2):170–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20159386>
83. Roy D, Quiles J, Aldama G, Sinha M, Avanzas P, Arroyo-Espliguero R, et al. Ischemia Modified Albumin for the assessment of patients presenting to the emergency department with acute chest pain but normal or non-diagnostic 12-lead electrocardiograms and negative cardiac troponin T. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. 2004 Nov [cited 2013 Dec 20];97(2):297–301. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15458698>
84. Pantazopoulos I, Papadimitriou L, Dontas I, Demestiha T, Iakovidou N, Xanthos T. Ischaemia modified albumin in the diagnosis of acute coronary syndromes. *Resuscitation* [Internet]. 2009 Mar [cited 2013 Dec 20];80(3):306–10. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19111377>
85. Sinha MK, Roy D, Gaze DC, Collinson P., Kaski J-C. Role of “Ischemia Modified Albumin”, a new biochemical marker of myocardial ischaemia, in the early diagnosis of acute coronary syndromes. *Emerg. Med. J.* 2004;21:29–35.
86. Shen X-L, Lin C-J, Han L-L, Lin L, Pan L, Pu X-D. Assessment of ischemia-modified albumin levels for emergency room diagnosis of acute coronary syndrome. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2011 Jun 16 [cited 2013 Dec 20];149(3):296–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20202711>
87. Azzazy HME, Pelsers MM a L, Christenson RH. Unbound free fatty acids and heart-type fatty acid-binding protein: diagnostic assays and clinical applications. *Clin. Chem.* [Internet]. 2006 Jan [cited 2013 Dec 25];52(1):19–29. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16269514>
88. Apple FS, Kleinfeld AM, Iii JA. Biomarker Discovery and Profiling. Unbound Free Fatty Acid Concentrations Are Increased in Cardiac Ischemia. *Clin. Proteomics J.* 2004;1:41–4.
89. Richieri G V, Kleinfeld a M. Unbound free fatty acid levels in human serum. *J. Lipid Res.* [Internet]. 1995 Feb;36(2):229–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7751810>
90. Liao J, Chan CP, Cheung Y, Lu J, Luo Y, Cauterley GWH, et al. Human heart-type fatty acid-binding protein for on-site diagnosis of early acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2009 Apr 17 [cited

- 2013 Dec 9];133(3):420–3. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18571749>
91. Orak M, Ustündağ M, Güloğlu C, Ozhasenekler A, Alyan O, Kale E. The role of the heart-type fatty acid binding protein in the early diagnosis of acute coronary syndrome and its comparison with troponin I and creatine kinase-MB isoform. *Am. J. Emerg. Med.* [Internet]. 2010 Oct [cited 2013 Dec 9];28(8):891–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20825920>
 92. Kagawa Y, Toyofuku M, Masaoka Y, Muraoka Y, Okimoto T, Otsuka M, et al. Comparison of heart-type fatty acid binding protein and sensitive troponin for the diagnosis of early acute myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013 Jun 20 [cited 2013 Jun 21];166(2):347–51. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22078394>
 93. Bruins Slot MHE, Rutten FH, van der Heijden GJMG, Doevendans P a, Mast EG, Bredero a C, et al. Diagnostic value of a heart-type fatty acid-binding protein (H-FABP) bedside test in suspected acute coronary syndrome in primary care. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013 Sep 30 [cited 2013 Dec 9];168(2):1485–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23332896>
 94. Rooke TW, Sparks H V. The systemic circulation. p. 252–61.
 95. Ravkilde J, Nissen H, Horder M, Thygesen K. Independent Prognostic Value of Serum Creatine Kinase Isoenzyme MB Mass , Cardiac Troponin T and Myosin Light Chain Levels in Suspected Acute Myocardial Infarction. Analysis of 28 Months of Follow Up in 196 Patients. *Am. Coll. Cardiol.* 1995;25(3):574–81.
 96. Hillis GS, Zhao N, Taggart P, Dalsey WC, Mangione A, Einstein A. Utility of cardiac troponin I , creatine myoglobin in the early in-hospital triage of “ high risk ” patients with chest pain. *Heart.* 1999;82:614–20.
 97. Sonel a., Sasseen BM, Fineberg N, Bang N, Wilensky RL. Prospective Study Correlating Fibrinopeptide A, Troponin I, Myoglobin, and Myosin Light Chain Levels With Early and Late Ischemic Events in Consecutive Patients Presenting to the Emergency Department With Chest Pain. *Circulation* [Internet]. 2000 Sep 5 [cited 2013 Dec 25];102(10):1107–13. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.102.10.1107>
 98. Govindan S, McElligott A, Muthusamy S, Nair N, Barefield D, Martin JL, et al. Cardiac myosin binding protein-C is a potential diagnostic biomarker for myocardial infarction. *J. Mol. Cell. Cardiol.* [Internet]. 2012 Jan [cited 2013 Dec 22];52(1):154–64. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3246118&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 99. Decker RS, Nakamura S, Decker ML, Sausamuta M, Sinno S, Harris K, et al. The dynamic role of cardiac myosin binding protein-C during ischemia. *J. Mol. Cell. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ltd; 2012 May [cited 2013 Dec

- 19];52(5):1145–54. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22281395>
100. Sim DS, Ahn Y. Novel inflammatory biomarkers in acute coronary syndrome. *Korean J. Intern. Med.* [Internet]. 2013 Mar;28(2):156–8. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3604603&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
101. Ridker PM. Clinical Application of C-Reactive Protein for Cardiovascular Disease Detection and Prevention. *Circulation* [Internet]. 2003 Jan 28 [cited 2014 Jan 2];107(3):363–9. Available from:
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.0000053730.47739.3C>
102. Armstrong EJ, Morrow D a, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part II: acute-phase reactants and biomarkers of endothelial cell activation. *Circulation* [Internet]. 2006 Mar 21 [cited 2013 Dec 31];113(7):e152–5. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16490825>
103. Brunetti ND, Troccoli R, Correale M, Pellegrino PL, Di Biase M. C-reactive protein in patients with acute coronary syndrome: correlation with diagnosis, myocardial damage, ejection fraction and angiographic findings. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. 2006 May 10 [cited 2014 Jan 2];109(2):248–56. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16055214>
104. Blake GJ, Ridker PM. C-reactive protein and other inflammatory risk markers in acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* [Internet]. 2003 Feb [cited 2014 Jan 2];41(4):S37–S42. Available from:
<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735109702029534>
105. Abdelmouttaleb I, Danchin N, Ilardo C, Aimone-Gastin I, Angioi M, Lozniewski a, et al. C-Reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes. *Am. Heart J.* [Internet]. 1999 Feb;137(2):346–51. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9924170>
106. Sabatine MS. Multimarker Approach to Risk Stratification in Non-ST Elevation Acute Coronary Syndromes: Simultaneous Assessment of Troponin I, C-Reactive Protein, and B-Type Natriuretic Peptide. *Circulation* [Internet]. 2002 Mar 25 [cited 2014 Jan 2];105(15):1760–3. Available from:
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.0000015464.18023.0A>
107. Stubbs PJ, Al-Obaidi MK, Conroy RM, Collinson PO, Graham IM, Noble MIM. Effect of Plasma Homocysteine Concentration on Early and Late Events in Patients With Acute Coronary Syndromes. *Circulation* [Internet]. 2000 Aug 8 [cited 2014 Jan 4];102(6):605–10. Available from:
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.102.6.605>
108. Al-Obaidi MK, Philippou H, Stubbs PJ, Adami a., Amersey R, Noble MM, et al. Relationships Between Homocysteine, Factor VIIa, and Thrombin Generation in

- Acute Coronary Syndromes. *Circulation* [Internet]. 2000 Feb 1 [cited 2014 Jan 4];101(4):372–7. Available from:
<http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.101.4.372>
109. Cardoso IL. Homocisteína e a doença cardiovascular. *Rev. da Fac. Ciências da Saúde da Univ. Fernando Pessoa*. 2009;6:198–206.
110. Loria V, Dato I, Graziani F, Biasucci LM. Myeloperoxidase: a new biomarker of inflammation in ischemic heart disease and acute coronary syndromes. *Mediators Inflamm.* [Internet]. 2008 Jan [cited 2014 Jan 4];2008:135625. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2276594&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
111. Baldus S, Heeschen C, Meinertz T, Zeiher AM, Eiserich JP, Münzel T, et al. Myeloperoxidase serum levels predict risk in patients with acute coronary syndromes. *Circulation* [Internet]. 2003 Sep 23 [cited 2013 Dec 19];108(12):1440–5. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12952835>
112. Ferrante G, Nakano M, Prati F, Niccoli G, Mallus MT, Ramazzotti V, et al. High levels of systemic myeloperoxidase are associated with coronary plaque erosion in patients with acute coronary syndromes: a clinicopathological study. *Circulation* [Internet]. 2010 Dec 14 [cited 2014 Jan 4];122(24):2505–13. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21126969>
113. Wang J, Xing Y, Ma C, Li S, Li Z, Gao Y, et al. Clinical correlation between myeloperoxidase and acute coronary syndrome. *J. Geriatr. Cardiol.* 2007;4(4):209–11.
114. Morrow D a, Sabatine MS, Brennan M-L, de Lemos J a, Murphy S a, Ruff CT, et al. Concurrent evaluation of novel cardiac biomarkers in acute coronary syndrome: myeloperoxidase and soluble CD40 ligand and the risk of recurrent ischaemic events in TACTICS-TIMI 18. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2008 May [cited 2013 Dec 19];29(9):1096–102. Available from:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2829435&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
115. Armstrong EJ, Morrow D a, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part III: biomarkers of oxidative stress and angiogenic growth factors. *Circulation* [Internet]. 2006 Mar 28 [cited 2013 Dec 31];113(8):e289–92. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16505179>
116. Wendland AE. Efeito de variáveis pré-analíticas nos níveis de Mieloperoxidase. Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2009.
117. Roman RM, Wendland AE, Polanczyk CA. Clinical Update Myeloperoxidase and Coronary Arterial Disease : From Research to Clinical Practice. *Clin. Updat.* 2007;11–8.

118. Krauss T, Pauer H-U, Augustin HG. Prospective analysis of placenta growth factor (PIGF) concentrations in the plasma of women with normal pregnancy and pregnancies complicated by preeclampsia. *Hypertens. Pregnancy* [Internet]. 2004 Jan;23(1):101–11. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15117604>
119. Armstrong EJ, Morrow D a, Sabatine MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: part IV: matrix metalloproteinases and biomarkers of platelet activation. *Circulation* [Internet]. 2006 Mar 7 [cited 2013 Dec 31];113(9):e382–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16520416>
120. Bittner A, Alcaíno H, Castro PF, Pérez O, Corbalán R, Troncoso R, et al. Matrix metalloproteinase-9 activity is associated to oxidative stress in patients with acute coronary syndrome. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2010 Aug 6 [cited 2014 Jan 4];143(1):98–100. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19150151>
121. Jin H, Peng G, Wang D, Yue C, Li Y. The serum levels of MMP-9, sICAM-1, CRP and WBC increased in patients with acute coronary syndrome. *J. Nanjing Med. Univ.* [Internet]. 2007 Jul;21(4):222–6. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1007437607600501>
122. Cimmino G, Ragni M, Cirillo P, Petrillo G, Loffredo F, Chiariello M, et al. C-reactive protein induces expression of matrix metalloproteinase-9: a possible link between inflammation and plaque rupture. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013 Sep 30 [cited 2014 Jan 4];168(2):981–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23157807>
123. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* [Internet]. 1998 Aug;32(2):368–72. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23505923>
124. Kobayashi N, Hata N, Kume N, Yokoyama S, Shinada T, Tomita K, et al. Matrix Metalloproteinase-9 for the Earliest Stage Acute Coronary Syndrome. *Circ. J.* [Internet]. 2011 [cited 2014 Jan 4];75(12):2853–61. Available from: <http://joi.jlc.jst.go.jp/JST.JSTAGE/circj/CJ-11-0640?from=CrossRef>
125. Halade G V, Jin Y-F, Lindsey ML. Matrix metalloproteinase (MMP)-9: a proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation. *Pharmacol. Ther.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2013 Jul [cited 2014 Jan 4];139(1):32–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23562601>
126. Montaner J, Alvarez-Sabin J, Molina C a., Angles a., Abilleira S, Arenillas J, et al. Matrix Metalloproteinase Expression Is Related to Hemorrhagic Transformation After Cardioembolic Stroke. *Stroke* [Internet]. 2001 Dec 1 [cited 2014 Mar 23];32(12):2762–7. Available from: <http://stroke.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/hs1201.99512>

127. Consuegra-Sanchez L, Fredericks S, Kaski JC. Pregnancy-associated plasma protein-A (PAPP-A) and cardiovascular risk. *Atherosclerosis* [Internet]. 2009 Apr [cited 2013 Dec 21];203(2):346–52. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18789800>
128. Bayes-Genis a, Conover C a, Overgaard MT, Bailey KR, Christiansen M, Holmes DR, et al. Pregnancy-associated plasma protein A as a marker of acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* [Internet]. 2001 Oct 4;345(14):1022–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11586954>
129. Gururajan P, Gurusurthy P, Nayar P, Rao GSN, Babu RS, Sarasabharati a, et al. Pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) as an early marker for the diagnosis of acute coronary syndrome. *Indian Heart J.* [Internet]. Cardiological Society of India; 2012 [cited 2014 Jan 4];64(2):141–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22572488>
130. Andreotti F, Rio T, Conti E. Role of PAPP-A in atherothrombosis: messages to take home. *Atherosclerosis* [Internet]. 2009 Apr [cited 2014 Jan 4];203(2):353–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18996526>
131. Thorn EM, Khan I a. Pregnancy-associated plasma protein-A: an emerging cardiac biomarker. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. 2007 May 2 [cited 2014 Jan 4];117(3):370–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17157395>
132. Iversen K, Teisner A, Dalager S, Olsen KE, Floridon C, Teisner B. Pregnancy associated plasma protein-A (PAPP-A) is not a marker of the vulnerable atherosclerotic plaque. *Clin. Biochem.* [Internet]. The Canadian Society of Clinical Chemists; 2011 Mar [cited 2014 Jan 4];44(4):312–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21185276>
133. Bonaca MP, Scirica BM, Sabatine MS, Jarolim P, Murphy S a, Chamberlin JS, et al. Prospective evaluation of pregnancy-associated plasma protein-a and outcomes in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2012 Jul 24 [cited 2014 Jan 4];60(4):332–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22813612>
134. Dominguez-Rodriguez A, Abreu-Gonzalez P, Garcia-Gonzalez MJ, Kaski JC. Diurnal variation of soluble CD40 ligand in patients with acute coronary syndrome. *Soluble CD40 ligand and diurnal variation. Thromb. Res.* [Internet]. Elsevier Ltd; 2009 Feb [cited 2014 Jan 4];123(4):617–21. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18579184>
135. Tousoulis D, Androulakis E, Papageorgiou N, Briasoulis A, Siasos G, Antoniades C, et al. From atherosclerosis to acute coronary syndromes: the role of soluble CD40 ligand. *Trends Cardiovasc. Med.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010 Jul [cited 2014 Jan 4];20(5):153–64. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21742271>

136. Conde ID, Kleiman NS. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N. Engl. J. Med.* [Internet]. 2003 Jun 19;348(25):2575–7; author reply 2575–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21742271>
137. Peng D-Q, Zhao S-P, Li Y-F, Li J, Zhou H-N. Elevated soluble CD40 ligand is related to the endothelial adhesion molecules in patients with acute coronary syndrome. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 2002 May 7;319(1):19–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11922919>
138. Yan J-C, Zhu J, Gao L, Wu Z-G, Kong X-T, Zong R-Q, et al. The effect of elevated serum soluble CD40 ligand on the prognostic value in patients with acute coronary syndromes. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 2004 May [cited 2014 Jan 4];343(1-2):155–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15115688>
139. Body R, Griffith C a, Keevil B, McDowell G, Carley S, Ferguson J, et al. Choline for diagnosis and prognostication of acute coronary syndromes in the Emergency Department. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 2009 Jun 27 [cited 2013 Dec 22];404(2):89–94. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19341718>
140. Danne O, Möckel M. Choline in acute coronary syndrome: an emerging biomarker with implications for the integrated assessment of plaque vulnerability. *Expert Rev. Mol. Diagn.* [Internet]. 2010 Mar;10(2):159–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20214535>
141. Danne O, Möckel M, Lueders C, Mügge C, Zschunke G a, Lufft H, et al. Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am. J. Cardiol.* [Internet]. 2003 May [cited 2013 Dec 23];91(9):1060–7. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0002914903001498>
142. Danne O, Lueders C, Storm C, Frei U, Möckel M. Whole blood choline and plasma choline in acute coronary syndromes: prognostic and pathophysiological implications. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 2007 Aug [cited 2013 Dec 23];383(1-2):103–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17553478>
143. Wiviott SD, de Lemos J a, Morrow D a. Pathophysiology, prognostic significance and clinical utility of B-type natriuretic peptide in acute coronary syndromes. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. 2004 Aug 16 [cited 2013 Dec 22];346(2):119–28. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15256312>
144. Body R, Roberts C. Best evidence topic report. Brain natriuretic peptide as a potential marker of acute coronary syndromes. *Emerg. Med. J.* [Internet]. 2006 May [cited 2013 Dec 22];23(5):403–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2564098&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

145. Linskey K, Lewandrowski K. The role of B-type natriuretic peptide testing in patients with acute coronary syndromes. *Minerva Cardioangiol.* [Internet]. 2012 Apr;60(2):175–82. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22495166>
146. De Lemos J a. Brain Natriuretic Peptide Measurement in Acute Coronary Syndromes: Ready for Clinical Application? *Circulation* [Internet]. 2002 Dec 3 [cited 2013 Dec 19];106(23):2868–70. Available from: <http://circ.ahajournals.org/cgi/doi/10.1161/01.CIR.0000042763.07757.C0>
147. Qin Y-W, Teng X, He J-Q, Du J, Tang C-S, Qi Y-F. Increased plasma levels of intermedin and brain natriuretic peptide associated with severity of coronary stenosis in acute coronary syndrome. *Peptides* [Internet]. Elsevier Inc.; 2013 Apr [cited 2013 Dec 22];42:84–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23391507>
148. Gravning J, Smedsrud MK, Omland T, Eek C, Skulstad H, Aaberge L, et al. Sensitive troponin assays and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in acute coronary syndrome: prediction of significant coronary lesions and long-term prognosis. *Am. Heart J.* [Internet]. Mosby, Inc.; 2013 May [cited 2013 Dec 22];165(5):716–24. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23622908>
149. Sanchis J, Bardají A, Bosch X, Loma-Orsorio P, Marín F, Sánchez PL, et al. N-terminal Pro-brain Natriuretic Peptide and High-sensitivity Troponin in the Evaluation of Acute Chest Pain of Uncertain Etiology. A PITAGORAS Substudy. *Rev. Española Cardiol. (English Ed.)* [Internet]. 2013 Jul [cited 2013 Dec 22];66(7):532–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1885585712003970>
150. Fischbach F, Dunning MB. *A Manual of Laboratory and Diagnostic Test.* 8th ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2009.
151. Staub D, Morgenthaler NG, Buser C, Breidhardt T, Potocki M, Noveanu M, et al. Use of copeptin in the detection of myocardial ischemia. *Clin. Chim. Acta.* [Internet]. Elsevier B.V.; 2009 Jan [cited 2014 Jan 4];399(1-2):69–73. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18848827>
152. Folli C, Consonni D, Spessot M, Salvini L, Velati M, Ranzani G, et al. Diagnostic role of copeptin in patients presenting with chest pain in the emergency room. *Eur. J. Intern. Med.* [Internet]. European Federation of Internal Medicine.; 2013 Mar [cited 2014 Jan 4];24(2):189–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23063248>
153. Yalta K, Yalta T, Sivri N, Yetkin E. Copeptin and cardiovascular disease: a review of a novel neurohormone. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013 Sep 1 [cited 2013 Dec 27];167(5):1750–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23298558>

154. Keller T, Tzikas S, Zeller T, Czyz E, Lillpopp L, Ojeda FM, et al. Copeptin improves early diagnosis of acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Inc.; 2010 May 11 [cited 2014 Jan 4];55(19):2096–106. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20447532>
155. Bohyn E, Dubie E, Lebrun C, Jund J, Beaune G, Lesage P, et al. Expeditious exclusion of acute coronary syndrome diagnosis by combined measurements of copeptin, high-sensitivity troponin and GRACE score. *Am. J. Emerg. Med.* [Internet]. Elsevier B.V.; 2013 Dec [cited 2014 Jan 4]; Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0735675713008292>
156. Maisel A, Mueller C, Neath S-X, Christenson RH, Morgenthaler NG, McCord J, et al. Copeptin helps in the early detection of patients with acute myocardial infarction: primary results of the CHOPIN trial (Copeptin Helps in the early detection Of Patients with acute myocardial INfarction). *J. Am. Coll. Cardiol.* [Internet]. 2013 Jul 9 [cited 2013 Dec 16];62(2):150–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23643595>
157. Chenevier-Gobeaux C, Freund Y, Claessens Y-E, Guérin S, Bonnet P, Doumenc B, et al. Copeptin for rapid rule out of acute myocardial infarction in emergency department. *Int. J. Cardiol.* [Internet]. Elsevier Ireland Ltd; 2013 Jun 5 [cited 2014 Jan 4];166(1):198–204. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22104994>
158. Balmelli C, Meune C, Twerenbold R, Reichlin T, Rieder S, Drexler B, et al. Comparison of the performances of cardiac troponins, including sensitive assays, and copeptin in the diagnostic of acute myocardial infarction and long-term prognosis between women and men. *Am. Heart J.* [Internet]. Mosby, Inc.; 2013 Jul [cited 2014 Jan 4];166(1):30–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23816018>
159. Eggers KM, Kempf T, Allhoff T, Lindahl B, Wallentin L, Wollert KC. Growth-differentiation factor-15 for early risk stratification in patients with acute chest pain. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2008 Oct [cited 2014 Jan 4];29(19):2327–35. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2556729&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
160. Wollert KC, Kempf T, Peter T, Olofsson S, James S, Johnston N, et al. Prognostic value of growth-differentiation factor-15 in patients with non-ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation* [Internet]. 2007 Feb 27 [cited 2014 Jan 4];115(8):962–71. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17283261>
161. Wollert KC, Kempf T, Lagerqvist B, Lindahl B, Olofsson S, Allhoff T, et al. Growth differentiation factor 15 for risk stratification and selection of an invasive treatment strategy in non ST-elevation acute coronary syndrome. *Circulation* [Internet]. 2007 Oct 2 [cited 2014 Jan 4];116(14):1540–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17848615>

162. Khan SQ, Ng K, Dhillon O, Kelly D, Quinn P, Squire IB, et al. Growth differentiation factor-15 as a prognostic marker in patients with acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.* [Internet]. 2009 May [cited 2014 Jan 4];30(9):1057–65. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19168526>

ANEXOS

Anexo 1 – Diagnóstico da Síndrome Coronária Aguda

No ano de 2000, o documento de consenso da Sociedade Europeia de Cardiologia e do Colégio Americano de Cardiologia (ESC/ACC), definiu critérios de diagnóstico para as SCA.

Para o **EM-Q** terão de se verificar as seguintes alterações:

1. Alterações bioquímicas:
 - a) Concentrações máximas da Troponina I que excedem o limite de decisão pelo menos uma vez nas primeiras 24 horas após o evento clínico;
 - b) Valor máximo de CK-MB que exceda o percentil 99 dos valores de referência do grupo controlo em duas amostras sucessivas, ou valor máximo duas vezes o limite alto em uma vez após o evento clínico;
2. Alterações do eletrocardiograma
 - a) Elevação do segmento ST no ponto J em duas ou mais derivações contínuas/adjacentes com os *cutoff* de $\geq 0,2$ mV nas derivações V1, V2 ou V3 e $\geq 0,1$ mV nas outras derivações.
 - b) Sem elevação do segmento ST: i) Depressão do segmento ST. ii) Anormalidades na onda T (em duas ou mais derivações contínuas/adjacentes)
 - c) Onda Q nas derivações V1 a V3, onda Q ou 4 para 30 ms (0,03 s) nas derivações I, II, aVL, aVF, V4, V5 ou V6.
3. Alterações eletrocardiográficas: anormalidades do movimento da parede cardíaca.
4. Dor torácica típica

Para o **EM-sQ** devem estar presentes as seguintes alterações:

1. Alterações Bioquímicas:
 - a) Concentrações máximas de troponina I a exceder o limite de decisão pelo menos uma vez nas primeiras 24 horas após o evento clínico;
 - b) Valor máximo de CK-MB que exceda o percentil 99 dos valores de referência do grupo controlo em duas amostras sucessivas, ou valor máximo duas vezes o limite alto em uma vez após o evento clínico;

2. Alterações do eletrocardiograma
 - a) Elevação do segmento ST no ponto J em duas ou mais derivações contínuas/adjacentes com os *cutoff* de $\geq 0,2$ mV nas derivações V1, V2 ou V3 e $\geq 0,1$ mV nas outras derivações.
 - b) Sem elevação do segmento ST: i) Depressão do segmento ST. ii) Anormalidades na onda T (em duas ou mais derivações contínuas/adjacentes)
3. Alterações eletrocardiográficas: anormalidades do movimento da parede cardíaca.
4. Ausência de ondas Q
5. Dor torácica típica

No caso de se tratar de um episódio de **Angina Instável**, os critérios são os seguintes:

1. Dor torácica típica e alterações no eletrocardiograma tais como depressão do segmento ST ou inversão da onda T em ≥ 2 derivações
2. Ausência de alterações bioquímicas
3. Ausência de alterações eletrocardiográficas ao nível do movimento da parede cardíaca