

Podem a troponina sanguínea e salivar ser sinalisadoras precoces do infarto agudo do miocárdio?

Can blood and salivary troponin be early signals of acute myocardial infarction?

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

RESUMO

Introdução: A lesão miocárdica pode ser identificada por biomarcadores extraídos das células cardíacas. A troponina é uma delas e pode ser observada no sangue e saliva. A saliva é preferencial pela facilidade de coleta não invasiva e pré-hospitalar.

Objetivo: Revisar se a expressão de troponina I do fluido salivar no infarto agudo do miocárdio em triagens de emergências é viável comparado aos seus níveis plasmáticos.

Método: A revisão da literatura foi feita colhendo informações publicadas no SciELO, Bibliomed, BVS - Biblioteca Virtual em Saúde, Pubmed e Scopus em português e inglês. A busca foi baseada em descritores relacionados ao tema, identificados como: "troponina, infarto agudo do miocárdio, biomarcadores cardíacos, fluido salivar", com busca AND e OR.

Resultados: Foram incluídos 109 trabalhos.

Conclusão: O diagnóstico baseado na saliva oferece muitas opções podendo vir a ser opção muito interessante para elucidação de infarto agudo do miocárdio para o clínico geral, lares de idosos e serviços de transporte com rapidez auxiliando precocidade no tratamento.

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

Mensagem Central

A lesão miocárdica pode ser identificada por biomarcadores extraídos das células cardíacas. A troponina é uma delas e pode ser observada no sangue e saliva. A saliva é preferencial pela facilidade de coleta não invasiva e pré-hospitalar. Esta revisão verifica se a expressão de troponina I do fluido salivar no infarto agudo do miocárdio em triagens de emergências é viável comparado aos seus níveis plasmáticos.

Perspectiva

O diagnóstico baseado na saliva oferece muitas opções podendo vir a ser opção muito interessante para elucidação de infarto agudo do miocárdio para o clínico geral, lares de idosos e serviços de transporte com rapidez, auxiliando precocidade no tratamento.

ABSTRACT

Introduction: Myocardial injury can be identified by biomarkers extracted from cardiac cells. Troponin is one of them and can be observed in blood and saliva. Saliva is preferred due to its ease of non-invasive and pre-hospital collection.

Objective: To review whether the expression of troponin I in salivary fluid in acute myocardial infarction in emergency screening is viable compared to its plasma levels.

Method: The literature review was carried out by collecting information published in SciELO, Bibliomed, VHL - Biblioteca Virtual em Saúde, Pubmed and Scopus in Portuguese and English. The search was based on descriptors related to the topic, identified as: "troponin, acute myocardial infarction, cardiac biomarkers, salivary fluid", with AND and OR searches.

Results: Were included 109 articles correlated to the theme.

Conclusion: Diagnosis based on saliva offers many options and could be a very interesting option for elucidating acute myocardial infarction for general practitioners, nursing homes and transport services quickly, aiding early treatment.

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

¹Faculdade Evangélica Mackenzie do Paraná, Curitiba, PR, Brasil;

²Ross Tilley Burn Centre, Sunnybrook Hospital, University of Toronto, Ontario, Canada;

Conflito de interesse: Nenhum | Financiamento: Em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de financiamento 001 | Recebido em: 10/10/2023 | Aceito em: 21/05/2024 | Correspondência: flaviakubrusly@gmail.com | Editor Associado: Jurandir Marcondes Ribas Filho

Como citar:

Arsego FK, Kubrusly LF, Gewehr DM, Possiedi RD, Nassif PAN, Tabushi FI, Kubrusly FB, Ronkoski ML, Cioato PP. Podem a troponina sanguínea e salivar ser sinalisadoras precoces do infarto agudo do miocárdio? BioSCIENCE. 2024;82:e0039

INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares são as causas mais comuns de mortalidade no mundo. A distribuição dela não depende de fatores econômicos, sociais ou sociofamiliares. Segundo dados da Organização Mundial da Saúde de 2021¹, a pandemia resultante da COVID acometeu mais de 765 milhões de pessoas no mundo (765.903.278) com quase 7 milhões de óbitos nestes 2 anos (6.927.378). Esses números causaram calamidade mundial, recrutando todos os esforços humanos e financeiros possíveis de praticamente todo o planeta. Contudo, em dados recentes (2021), a mesma organização estimou que 17,9 milhões de pessoas morreram de doenças cardiovasculares apenas em 2019 (32% da mortalidade do mundo), ou seja, toda a mortalidade apresentada pela COVID em 2 anos de pandemia foi a metade da mortalidade de apenas 1 ano das doenças cardiovasculares, e destas, 85% foram por infarto agudo do miocárdio.²

Entre essas doenças, a mais frequente é a isquemia coronariana, seguida do acidente vascular cerebral.³ Nos EUA, estima-se que 116,4 milhões, ou 46% dos adultos, tenham hipertensão, com mais de 2.300 mortes diárias devido às doenças cardiovasculares e 389,4 mortes diárias relacionadas ao acidente vascular encefálico. Na Europa, mais 4 milhões de indivíduos morreram de doenças cardiovasculares em 2017.⁴

No Brasil, segundo dados do Sistema Único de Saúde (DATASUS)⁵ e Sociedade Brasileira de Cardiologia, estima-se apenas em 2017, 395.700 mortes por causa cardiovascular (www.cardiometro.com.br).⁶

Assim, os objetivos desta revisão foram identificar e avaliar o papel da troponina cardíaca na saliva de pacientes para ver se ela pode ser considerada biomarcador no diagnóstico precoce do infarto agudo do miocárdio.

MÉTODO

A revisão da literatura foi feita colhendo informações publicadas em editoras de acesso virtual e em plataformas virtuais (SciELO – Scientific Electronic Library Online, Bibliomed, BVS - Biblioteca Virtual em Saúde, Pubmed e Scopus). A busca foi baseada em descritores relacionados ao tema, identificados por meio do DeCS/MESH a saber: “troponina, infarto agudo do miocárdio, biomarcadores cardíacos, fluido salivar”, e seus correspondentes em inglês, com busca AND ou OR. Inicialmente foi considerado o título e/ou resumo e, após, realizada a leitura na íntegra daqueles que mais se correspondiam ao tema da revisão.

DISCUSSÃO

Definição clínica e patológica do infarto do miocárdio

O termo infarto agudo do miocárdio (IAM) deve ser usado quando há lesão com evidência clínica de isquemia miocárdica aguda e com detecção de aumento e/ou queda dos valores de troponina cardíaca com pelo menos 1 unidade acima do percentil 99 do limite superior da normalidade e com pelo menos 1 dos seguintes sinais: alterações isquêmicas novas no eletrocardiograma;

desenvolvimento de ondas Q patológicas nesse eletro; ecocardiograma e/ou cintilografia miocárdica evidenciando perda recente de miocárdio viável ou região da parede com anormalidade de movimento em padrão consistente com causa isquêmica. O diagnóstico patológico é definido como a necrose celular decorrente de isquemia prolongada.⁷

Fisiopatologia do infarto do miocárdio

As primeiras alterações estruturais ocorrem 10-15 min após o início da isquemia, sendo observados glicogênio celular diminuído, miofibrilas relaxadas e ruptura de sarcômeros. Anormalidades mitocondriais são geralmente observadas a partir de 10 min após a oclusão coronariana e ocorrem de maneira progressiva, podendo ser observadas na microscopia eletrônica.

Pode-se levar horas até que seja possível a detecção da necrose miocárdica em humanos, diferentemente do que ocorre em animais, onde já é possível identificar a apoptose celular em até 10 min após a indução de isquemia.

Baseado em estudos experimentais, a necrose progride do subendocárdio para o subepicárdio ao longo de várias horas. Esse tempo pode ser aumentado pela presença de fluxo colateral existente, redução do consumo de oxigênio pelo miocárdio e a presença de intermitência entre oclusão e reperfusão. A implementação oportuna de terapias de reperfusão é capaz de reduzir a extensão da lesão isquêmica.

Classificação do IAM

Ele pode ser classificado de acordo com sua causa, transmuralidade e tempo de evolução.

Quanto à causa

São considerados 5 tipos. O tipo 1, é infarto espontâneo relacionado à isquemia devido a evento coronariano primário como erosão, com ou sem ruptura, ou fissura ou dissecação de placa aterosclerótica. O tipo 2, é aquele secundário à isquemia devido ao aumento na demanda de oxigênio ou diminuição de sua oferta, e como causas pode-se citar: espasmo coronariano, embolismo coronariano, anemia, arritmias, hipertensão ou hipotensão e consumo de drogas ilícitas. O tipo 3, é morte súbita de origem cardíaca, geralmente com sintomas sugestivos de isquemia miocárdica, mas ela ocorrendo antes de se obter amostras sanguíneas, ou pouco tempo antes dos biomarcadores positivarem no sangue. O tipo 4, é infarto associado à intervenção coronariana percutânea (4a) ou trombose de stent (4b) ou, ainda, estenose pós-intervenção coronariana (4c). O tipo 5, é aquele associado à operação de revascularização miocárdica.^{7,8}

Quanto à transmuralidade

Ele pode ser subendocárdico, quando a isquemia envolve apenas 1 camada subendocárdica, menor do que 50% da espessura da área afetada do miocárdio. É considerado transmural quando há sofrimento isquêmico em pelo menos 50% da espessura da área miocárdica afetada.⁹

Quanto ao tempo de evolução:

É classificado em superagudo, quando acometido em menos de 6 h; agudo, entre 6 h e 7 dias; em cicatrização, entre 7-28 dias; e cicatrizado, quando igual ou maior que 29 dias.⁷

Diagnóstico clinicolaboratorial

A identificação do IAM baseia-se no tripé: 1) sintomas; 2) eletrocardiograma; e 3) biomarcadores cardíacos de necrose clássicos (troponina I-TnI, creatina quinase sérica, fração miocárdica – CK-MB, concentrações séricas de CK total e mioglobina).¹⁰ A dosagem por tais marcadores está disponível em praticamente na totalidade das salas de emergência de hospitais.

O fator tempo desempenha papel fundamental nas decisões da conduta médica. As salas de emergência de hospitais com acreditação de qualidade pelo mundo, cronometram os tempos Porta-Eletrocardiograma (do registro do paciente ao eletrocardiograma) e Porta-Balão (do registro ao momento da abertura da artéria coronária ocluída na sala de hemodinâmica) com intuito de reduzir o período de isquemia e consequente necrose muscular. Na linguagem popular em cardiologia de emergência “*Time Is Muscle*”. A partir de aproximadamente 4 h de isquemia a perda de miócitos pode inviabilizar a qualidade de vida deste paciente em relação a baixa fração de ejeção e consequente aumento da morbimortalidade. De acordo com Diercks et al.¹², cada minuto de atraso no tratamento aumenta a taxa de mortalidade.

Frequentes relatos na literatura,^{5,11-19} mostram que os biomarcadores têm sido considerados para diagnóstico e/ou previsão de eventos agudos em pessoas assintomáticas. Podem adicionar informações de prognóstico, além do risco cardiovascular. Eles funcionam como complemento diagnóstico na suspeita de lesões isquêmicas do coração.^{11,13}

Os biomarcadores cardíacos devem obedecer a alguns critérios: 1) disponibilidade em toda sala de emergência; 2) precisão diagnóstica confirmando presença ou não de IAM; 3) rapidamente mensurável; 4) custo aceitável; e 5) capacidade de avaliação prognóstica.^{11,13,20}

Portanto, no que diz respeito ao manejo, os biomarcadores devem ajudar a identificar outras possíveis causas eventualmente até reversíveis de IAM, confirmarem sua presença ou ausência, estimando a sua gravidade e o risco de progressão da doença.

Os biomarcadores cardíacos constituem hoje a ferramenta mais importante no diagnóstico e tratamento da doença arterial coronária. Eles podem refletir os diferentes processos fisiopatológicos envolvidos no desenvolvimento e progressão dessas doenças, como volume cardíaco, sobrecarga de pressão, lesão de miócitos, inflamação e remodelação da matriz extracelular.^{20,21} Eles permitiram mudança significativa na forma de como os pacientes são avaliados e gerenciados nas salas de emergência em cardiologia.^{20,22}

Historicamente, os primeiros biomarcadores estudados foram aspartato aminotransferase,^{21,23} lactato desidrogenase,^{21,24,25} isoenzimas lactato

desidrogenase^{21,26,27} e creatina quinase.^{11,20,21,24,26} No entanto, mais recentemente surgiram outros, como peptídeos natriuréticos em particular peptídeo natriurético tipo B (BNP) e N-terminal-pro BNP,²⁸⁻³² ST2 solúvel³³⁻³⁶, citocinas inflamatórias^{37,38} fator GDF 15³⁹⁻⁴¹ galectina-3⁴²⁻⁴⁵ e as troponinas sensíveis.^{20,21,27,46} Entre estes, as troponinas cardíacas são as mais específicas e hoje mais utilizadas na cardiologia. São os marcadores de lesão miocárdica padrão-ouro para o diagnóstico de IAM devido à sua alta sensibilidade e especificidade.^{13,47,48} Conforme relatado por autores,^{47,49} a troponina I (cTnI) e troponina T (cTnT) têm especificidade praticamente absoluta para dano miocárdico e também para a evolução clínica tornando-se fundamentais para detecção precoce de lesão miocárdica. Permitem diagnóstico mais precoce e preciso do IAM, principalmente quando o eletrocardiograma não está alterado, acelerando o tratamento e, assim, ajudando a diminuir a lesão miocárdica definitiva.⁴⁷

Remodelamento ventricular

Após o IAM com longo tempo de isquemia é possível que grande quantidade de células percam sua vitalidade e viabilidade em resposta a essa agressão. O coração mamífero tem capacidade variável de regeneração após sofrer lesão isquêmica, podendo variar de resposta adequada à cicatrização da lesão até processo quando as células perdidas são substituídas por tecido fibrótico, incapaz de contração, seguido por remodelamento cardíaco adverso que evolui com prejuízo na função sistólica e consequente insuficiência cardíaca.^{50,51}

Uma vez iniciado o processo de necrose, segue-se resposta inflamatória. O processo cicatricial pode ser dividido em 3 fases. Primeiramente, ocorre onda pró-inflamatória juntamente com componente de degradação da matriz extracelular com o objetivo de reduzir a quantidade de debris necróticos. Em seguida, segue fase anti-inflamatória e pró-reparativa com o objetivo de diminuir o processo inflamatório e estimular células mesenquimais nos depósitos de matriz extracelular para realizar o processo cicatricial. Por fim, ocorre a fase de maturação, onde as células reparadoras são removidas. Várias células estão envolvidas nessa resposta coordenada, incluindo miócitos cardíacos, neutrófilos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliais e células nervosas.^{50,52}

A disfunção sistólica está relacionada à inibição das proteínas contráteis de forma permanente, necessitando de ao mínimo 20 min de isquemia para que a proteína contrátil não consiga mais se regenerar de maneira espontânea.⁵²

A fibrose cardíaca é dividida em 2 fases após a ocorrência do infarto, a fibrose de restauração e a fibrose reativa. A de restauração é a que ocorre em primeiro momento, para impedir a ruptura da câmara cardíaca. No entanto, o estresse mecânico leva à expansão dessa fibrose em áreas remotas à área do infarto, sendo essa a fibrose reativa que leva à alteração na complacência da câmara cardíaca e aumento na rigidez ventricular comprometendo a contratilidade e a função sistólica. Toda essa área de fibrose pode ainda

levar às anormalidades da condução elétrica cardíaca, predispondo a arritmias de reentrada, como a taquicardia ventricular sustentada, bloqueios de ramos, entre outros distúrbios elétricos, que contribuem para o risco de morte súbita nesses pacientes.^{51,52}

Troponinas e outras enzimas como biomarcadores cardíacos

A necrose do tecido cardíaco geralmente começa após 20 min de isquemia contínua e, quando isso acontece, inicia-se o processo de comprometimento temporário ou definitivo da função cardíaca⁵³ por necrose de miócitos. Da mesma forma, outras lesões ocorrem, como trauma miocárdio, superestimulação neuro-humoral, inflamação, apoptose ou a combinação desses fatores.²⁰

Os níveis de troponina são padrão-ouro para a detecção de lesão cardíaca e avaliação de necrose miocárdica.^{20,48,54,55} Os níveis dela em pacientes sem injúria miocárdica são muito baixos ou indetectáveis.⁴⁷

A troponina cardíaca alterada é relacionada com maior mortalidade hospitalar, independentemente de outras variáveis preditivas, conforme observado em ensaio clínico realizado por Peacock et al.⁵⁴ Esses autores relataram a associação entre os níveis de troponina cardíaca e eventos adversos em mais de 67.000 pacientes com descompensação cardíaca aguda e insuficiência cardíaca.⁵⁴ Concluíram que os pacientes com níveis elevados de troponina tiveram menor fração de ejeção, pressão arterial sistólica mais baixa e taxas mais elevadas de mortalidade hospitalar, o que confirma a importância e utilidade de quantificar os níveis de troponina na previsão de resultados.⁵⁴

O estudo de Latini et al.⁵⁶ corrobora estas conclusões, mostrando que a maioria dos pacientes em estado de insuficiência cardíaca crônica avançada aumenta levemente valores de troponina, revelando assim alterações miocárdicas permanentes devido à sobrecarga de volume nestes pacientes.

A troponina consiste em 1 complexo de 3 proteínas reguladoras: cTnI, cTnT e troponina C.^{47,48,57} O complexo de 3 unidades, junto com a tropomiosina, está localizado no filamento de actina e é essencial para a regulação mediada pelo cálcio do esqueleto e contração do músculo cardíaco.⁴⁸ Durante as contrações musculares, este complexo controla a interação mediada pelo cálcio e miosina, ou seja, funciona como receptor de íons cálcio para induzir mudanças estruturais na actina e na miosina, assim produzindo a contração.^{47,58,59}

Existem nos tecidos isoformas específicas de troponina I, T e C.⁴⁸ Enquanto a troponina C liga-se ao cálcio e é expressada pelas células cardíacas e músculo esquelético (portanto inadequada para fins de diagnóstico de IAM) a troponina I, que inibe as interações actina-miosina e a troponina T, que liga o complexo troponina à actina pela ligação à tropomiosina, são exclusivas do músculo miocárdico.^{47,48}

Em particular, a cTnI possui, no tecido miocárdico, a isoforma com cauda pós-tradução de 32 aminoácidos no terminal N. Esta sequência, bem como diferenças superiores a 40% com as sequências de outras isoformas,

tornam possível gerar anticorpos monoclonais altamente específicos aumentando assim a especificidade da detecção de cTnI.⁴⁸

Em relação à cTnT, ela é controlada por 3 genes, que produzem 4 isoformas de troponina T com sequências variáveis próximas às regiões do terminal N e do terminal C. Anticorpos altamente específicos são produzidos para o terminal N desta isoforma cTnT.⁴⁸ Durante IAM ou qualquer outro tipo de lesão miocárdica, o complexo de troponina é quebrado e a proteína individual com os componentes cTnI e cTnT são liberados na corrente sanguínea. De acordo com Danese e Montagnana²¹, isso leva ao aumento nos níveis de troponina no sangue periférico em 3-24 h e até valores máximos dentro de 10-20 h para cTnI e 15-120 h para cTnT, retornando aos valores normais após 10 dias (cTnI) e 14 dias (cTnT).^{21,47,60}

Por estas razões, e por causa de sua alta sensibilidade e especificidade para necrose de miócitos,^{21,47,48,61} cTnI e cTnT são utilizados para diagnóstico e acompanhamento de IAM. A cTnI é considerada marcador altamente específico de eventos coronarianos, uma vez que seus valores são baixos.^{47,48}

Os biomarcadores de troponina também podem ajudar na diferenciação entre lesão de músculo miocárdico e esquelético, mesmo quando concentrações de outros biomarcadores, particularmente a creatina quinase, estão normais ou pouco aumentadas.⁶¹ É importante lembrar que as estimativas de troponina cardíaca no dano aos cardiomiócitos é inespecífico quanto à sua causa.

Assim, os diagnósticos diferenciais de valores elevados de troponina devem ser considerados junto a eletrocardiografia e os dados clínicos. Estes, juntos, vão complementar a avaliação clínica com sintomas sugestivos de IAM.⁴⁷

Em relação ao papel da troponina como biomarcador cardíaco, consenso internacional da Sociedade Europeia de Cardiologia e do Colégio Americano de Cardiologia reconheceram elevações na troponina como fundamental para o diagnóstico de IAM.⁴⁸ Contudo, para evitar resultados falso-positivos, estabeleceram também critério em relação aos valores de corte para diagnóstico de IAM com estes biomarcadores cardíacos acima do percentil 99 do limite superior de referência.^{21,61} Este percentil pode ser ajustado com base no sexo, idade ou raça do paciente.⁴⁸

Biossensores para detecção de troponinas na saliva

A detecção de troponinas cardíacas para diagnóstico clínico e terapêutico tem sido realizada utilizando diferentes tecnologias, tais como ensaio imunoenzimático eletroquímico (ELISA),^{62,63} fluoroimunoensaio, ensaio quimioluminescente, detecção de ressonância plasmônica de superfície ou matriz de proteínas colorimétricas.^{47,48,62} A maioria destes testes é baseada em imunoenaios rápidos exigindo mínimo manuseio e preparação de amostras.⁶² No entanto, a necessidade de maior sensibilidade de troponina cardíaca para diagnóstico tem levado ao desenvolvimento contínuo de outros biossensores.^{4,47,64-67} Devido à baixa concentração de troponina, esses biossensores devem ter alta sensibilidade e especificidade, baixo custo, baixo consumo de energia

e devem ser preferencialmente miniaturizáveis para utilização fora do ambiente hospitalar.

Já existem vários biossensores de sensibilidade relatados na literatura para quantificar troponinas no soro ou sangue total em tempos curtos (<30 min), alcançando valores baixos para detecção (até alguns pg/mL)⁶⁸⁻⁷⁰ ou mesmo abaixo de 1 pg/mL⁷¹ (LOD - Limit of Detection - A mais baixa concentração que pode ser detectada com significância estatística).^{55,62,72-82}

Para reduzir a necessidade de coleta de sangue, esforços têm sido feitos para desenvolver novos métodos não invasivos para detectar e quantificar troponinas em amostras de saliva. A saliva é cada vez mais reconhecida como fluido diagnóstico que oferece vantagens na coleta de amostras em comparação ao sangue por ser indolor, menos invasivo, conveniente, pronto para ser coletado,^{63,77,83-92} e mais fácil de recoletar para confirmação diagnóstica⁹⁰ e existe a possibilidade de coleta pelo próprio paciente em ambiente domiciliar.

Existem relatos na literatura de correlação entre os valores de troponina no soro e saliva total não estimulada durante a ocorrência de IAM, em comparação com seus respectivos valores em indivíduos controle.

A Tabela 1 apresenta resumo dos estudos que relatam correlação positiva entre os níveis séricos e salivares de troponinas.

Outros estudos mostram menores correlações entre esses valores, o que determina a necessidade de novos trabalhos para quantificação da troponina salivar comparada à sanguínea para diagnóstico de IAM.⁹⁶⁻⁹⁹ Adicionalmente, a concentração de troponina na saliva é muito menor do que no soro,⁹² exigindo dispositivos com LOD com maior sensibilidade capaz de detectar essas concentrações extremamente baixas.

Além disso, devido às diferenças significativas entre as propriedades dos fluidos séricos e salivares, incluindo a alta viscosidade da saliva, mesmo um dispositivo e método com LOD baixo no soro pode não ser capaz de detectar o mesmo valor de troponina na saliva. Esses desafios precisam ser resolvidos antes da saliva poder ser usada como amostra para diagnóstico no local de

atendimento (Tabela 2).¹⁰⁰

Até recentemente, a avaliação e o manejo de síndromes coronarianas dependiam principalmente do quadro clínico e do eletrocardiograma, com biomarcadores desempenhando apenas papel periférico.¹¹ Recentemente os biomarcadores cardíacos têm desempenhado papel fundamental no diagnóstico e acompanhamento e prognóstico das síndromes coronarianas agudas.

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

Os estudos questionam se a troponina salivar pode ser indicador de lesão miocárdica intra e pré-hospitalar, e se a concentração salivar de troponina é correlacionada com a concentração sanguínea. Poucos relatam com sucesso a quantificação de troponinas na saliva, especialmente saliva crua. Independentemente da concentração extremamente baixa de biomarcadores neste local, os biossensores relatados na literatura para quantificação de troponinas no soro e sangue, atingiram LOD na faixa pg/mL aumentando a possibilidade de detecção na saliva.

Outro fato é que amostras de saliva crua ainda são desafios para a determinação de troponinas devido à sua alta viscosidade e à interferência dos componentes da saliva crua. Microfluidos^{101,102} para pré-processamento e filtração passiva^{103,104} podem reduzir a viscosidade da saliva crua tornando-a fluido apropriado para diagnóstico.

Como outros exemplos, a saliva tem sido amplamente aceita para detecção e quantificação desde cortisol até glicose^{88,105} incluindo até diagnóstico de alguns tipos de tumores malignos.^{106,107} Ela, pela sua fácil, rápida e não invasiva coleta, e ao fato de parte de seus constituintes serem derivados do sangue capilar local, tem o potencial de tornar-se fonte para diagnóstico de IAM nas

TABELA 1 — Resumo dos estudos relatados na literatura que destacam a correlação entre os valores de troponina no soro e na saliva total não estimulada após IAM

Primeiro autor	Troponina	Detecção	Concentração de troponina				Correlação
			Soro		Saliva		
			IAM (ng/mL)	Controle (ng/m)	IAM (ng/mL)	Controle (ng/m)	
Mishra, V93	I	RayBio cardiac troponin-I Elisa kit	4270 ± 1790 *	158 ± 50	0.67 ± 0.10 *	0.160 ± 0.05	p < 0.001
Wirzaii-Dizgah, 194	I	Monobind Inc (USA) ELISA kit	4070 (2140-8980) *	140 (80-230)	0.71 (0.52 - 1.07) *	0.19 (0.08 - 0.27)	p = 0.004 (total de indivíduos); p=0.001 (grupo de IAM)
Wirzaii-Dizgah, 195	T	Uscg Life Science Inc (China) ELISA kit	0.2195 ± 0.235 **	0.0257 ± 0.031	0.0316 ± 0.025**	0.0089 ± 0.012	p < 0.023

*=24 h após IAM; **=2ª manhã após IAM

TABELA 2 — Comparação dos biossensores relatados na literatura para a detecção de CTNI na saliva

Primeiro Autor	Troponina	Método de detecção	Plataforma de detecção	Volume de amostra (µL)	Mínimo detectado (ng/mL)	Faixa dinâmica linear (ng/mL)	Tempo de análise
Park J103	I	Bead-based ELISA with spectrophotometric detection at 450 nm	OS beads coated with monoclonal mouse anti-ctnL antibodies	200	0.51	1.47-50.1	<20 min
Chekin F91	I	Electrochemical-differential pulse voltammetry (DPV)	Aptamer modified GC/N-prGO-COOH/PEG electrodes	Non-defined	1x10-3	1x10-3 - 100	>30 min
Rezaei Z104	I	Fluorescence spectroscopy in the 220 nm - 350 nm range	Plexitonic hybrid system based upon GNP-QD and specific aptamer	250	7.58x10-6	9.60x10-6 - 0.06	30 s

emergências cardiológicas.⁶² Sua acessibilidade não invasiva permite ser coletada diretamente por pacientes em fase pré-hospitalar dos eventos cardiológicos isquêmicos agudos^{108,110,111} tornando o método atraente no arsenal diagnósticos das equipes médicas emergencistas e do próprio paciente em sua fase domiciliar ou em ambulância. Assim como dosagem de glicemia pode ser realizada por paciente em seu domicílio frente a sintomas suspeitos, também dosagem de troponina salivar poderia acelerar as tomadas de decisão do paciente e de possível equipe emergencista!¹⁰⁹

CONCLUSÃO

O diagnóstico baseado na saliva oferece muitas opções, com todas as variantes de exames médicos podendo vir a ser opção muito interessante para aplicação na exclusão de infarto do miocárdio para o clínico geral, lares de idosos⁵⁴ e serviços de transporte em ambulância. Quando um primeiro resultado diagnóstico é confirmado, a determinação de curvas enzimáticas pode acelerar o tratamento de pacientes graves com IAM.

Contribuição dos autores

Conceituação: Luiz Fernando Kubrusly

Análise formal: Fernando Issamu Tabushi

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

Metodologia: Flavia Kubrusly Arsego

Administração do projeto: Douglas Mesadri Gewehr

Supervisão: Flavia Kubrusly Arsego, Paulo Afonso Nunes Nassif

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

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

REFERÊNCIAS

- Genebra: OMS; 2021
- Cardiovascular diseases (CVDs). World Health Organization. Updated June 11, 2021. Disponível em: [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cardiovascular-diseases-(cvds))
- Bansilal S, Castellano JM, Fuster V. Global burden of CVD: focus on secondary prevention of cardiovascular disease. *Int J Cardiol*. 2015;201(Suppl 1):S1-7. Doi: 10.1016/S0167-5273(15)31026-3
- Sanchis-Gomar F, Perez-Quilis C, Leischik R, Lucia A. Epidemiology of coronary heart disease and acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016;4(13):256. Doi: 10.21037/atm.2016.06.33
- Sistema Único de Saúde (DATASUS). Disponível em: <https://datasus.saude.gov.br/>
- Sociedade Brasileira de Cardiologia. Disponível em: www.cardiometro.com.br
- Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Chaitman BR, Bax JJ, Morrow DA, et al. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). *Circulation*. 2018;138(20):e618-e651. Doi: 10.1161/CIR.0000000000000617
- Chapman AR, Lee KK, McAllister DA, Cullen L, Greenslade JH, Parsonage W, et al. Association of High-Sensitivity Cardiac Troponin I Concentration With Cardiac Outcomes in Patients With Suspected Acute Coronary Syndrome. 2017;318(19):1913-24. Doi: 10.1001/jama.2017.17488
- Petriz JLF, Gomes BF de O, Rua BS, Azevedo CF, Hadlich MS, Mussi HTP, et al. Avaliação do Infarto do Miocárdio pela Ressonância Magnética Cardíaca e Mortalidade em Longo Prazo. *Arq Bras Cardiol*. 2015;104(2):159-168. Doi: 10.5935/abc.20140177
- Türk-Adawi K, Saffafzadegan N, Fadhlil I, Taubert K, Sadeghi M, Wenger NK, et al. Cardiovascular disease in the Eastern Mediterranean region: epidemiology and risk factor burden. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(2):106-19. Doi: 10.1038/nrcardio.2017.138
- Kimmenade RRJ, Januzzi-Jr JL. Emerging biomarkers in heart failure. *Clin Chem*. 2012;58(1):127-38. Doi: 10.1373/clinchem.2011.165720
- Clemens RK, Annema W, Baumann F, Roth-Zetsche S, Seifert B, Eckardstein AV, et al. Cardiac biomarkers but not measures of vascular atherosclerosis predict mortality in patients with peripheral artery disease. *Clin Chim Acta*. 2019;495:215-20. Doi: 10.1016/j.cca.2019.04.061
- McDonnell B, Hearty S, Leonard P, O'Kennedy R. Cardiac biomarkers and the case for point-of-care testing. *Clin Biochem*. 2009;42(7-8):549-61. Doi: 10.1016/j.clinbiochem.2009.01.019
- Alintani Z, Fakanya WM, Tothill IE. Cardiovascular disease detection using bio-sensing techniques. *Talanta*. 2014;128:177-86. Doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.060
- Gerszten R, Wang TJ. The search for new cardiovascular biomarkers. *Nature*. 2008;451(7181):949-52. Doi: 10.1038/nature06802
- Qureshi A, Gurbuz Y, Niazi JH. Biosensors for cardiac biomarkers detection: A review. 2012(171-172):62-76. Doi: 10.1016/j.snb.2012.05.077
- Aydin S, Ugur K, Aydin S, Sahin I, Yardim M. Biomarkers in acute myocardial infarction: current perspectives. 2019;15:1-10. Doi: 10.2147/VHRM.S166157
- Christodoulides N, Pierre FN, Sanchez X, Li L, Hocquard K, Patton A, et al. Programmable bio-nanochip technology for the diagnosis of cardiovascular disease at the point-of-care. *Methodist Debakey Cardiovasc J*. 2012;8(1):6-12. Doi: 10.14797/mdcj-8-1-6
- de Boer RA, Daniels LB, Maisel AS, Januzzi-Jr JL. State of the Art: Newer biomarkers in heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2015;17(6):559-69. Doi: 10.1002/ehf.273
- Pouleur AC. Which biomarkers do clinicians need for diagnosis and management of heart failure with reduced ejection fraction? *Clin Chim Acta*. 2015;443:9-16. Doi: 10.1016/j.cca.2014.10.046
- Danese E, Montagnana M. An historical approach to the diagnostic biomarkers of acute coronary syndrome. *Ann Transl Med*. 2016;4(10):194. Doi: 10.21037/atm.2016.05.19
- Richards AM. What we may expect from biomarkers in heart failure. *Heart Fail Clin*. 2009;5(4):463-70. Doi: 10.1016/j.hfc.2009.04.011
- Goessling W, Massaro JM, Vasan RS, D'Agostinho-Sr RB, Ellison RC, Fox CS. Aminotransferase levels and 20-year risk of metabolic syndrome, diabetes, and cardiovascular disease. *Gastroenterology*. 2008;135(6):1935-44. Doi: 10.1053/j.gastro.2008.09.018
- Graeber GM, Shawl FA, Head HD, Wolf RE, Burge JR, Cafferty PK, et al. Changes in serum creatine kinase and lactate dehydrogenase caused by acute perioperative myocardial infarction and by transatrial cardiac surgical procedures. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 1986;92(1):63-72.
- York JW, Penney DG, Weeks TA, Stagno PA. Lactate dehydrogenase changes following several cardiac hypertrophic stresses. *J Appl Physiol*. 1976;40(6):923-6. Doi: 10.1152/jappl.1976.40.6.923
- Preus M, Bhargava AS, Khater AE, Gunzel P. Diagnostic value of serum creatine kinase and lactate dehydrogenase isoenzyme determinations for monitoring early cardiac damage in rats. *Toxicol Lett*. 1988;42(2):225-33. Doi: 10.1016/0378-4274(88)90081-1
- Jaffe AS, Landi Y, Parvin CA, Abendschein DR, Geltman EM, Laderson JH. Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosing acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 1996;42(11):1770-6.
- Hosoda K, Nakao K, Mukoyama M, Saito Y, Jougasaki M, Shikarami G, et al. Expression of brain natriuretic peptide gene in human heart. Production in the ventricle. *Hypertension*. 1991;17(6 Pt 2):1152-5. Doi: 10.1161/01.hyp.17.6.1152
- de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003;362(9380):316-22. Doi: 10.1016/S0140-6736(03)13976-1
- Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Omland T, et al. Plasma natriuretic peptide levels and the risk of cardiovascular events and death. *N Engl J Med*. 2004;350(7):655-63. Doi: 10.1056/NEJMoa031994
- Cheung BM, Kumana CR. Natriuretic peptides--relevance in cardiovascular disease. *JAMA*. 1998;280(23):1983-4. Doi: 10.1001/jama.280.23.1983
- Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens*. 1992;10(10):1111-4. Doi: 10.1097/00004872-199210000-00002
- Weir RAP, Miller AM, Murphy GEJ, Clements S, Steedman T, Connell JMC, et al. Serum soluble ST2: a potential novel mediator in left ventricular and infarct remodeling after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(3):243-50. Doi: 10.1016/j.jacc.2009.08.047
- Dieplinger B, Mueller T. Soluble ST2 in heart failure. *Clin Chim Acta*. 2015;443:57-70. Doi: 10.1016/j.cca.2014.09.021
- Weinberg EO, Shimp M, Hurwitz S, Tominaga SI, Rouleau JL, Lee RT. Identification of serum soluble ST2 receptor as a novel heart failure biomarker. *Circulation*. 2003;107(5):721-6. Doi: 10.1161/01.cir.0000047274.66749.fe

36. Pascual-Figal DA, Ordonez-Llanos J, Tornel PL, Vázquez R, Puig T, Valdés M, et al. Soluble ST2 for predicting sudden cardiac death in patients with chronic heart failure and left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2174-9. Doi: 10.1016/j.jacc.2009.07.041
37. Ueland T, Gullestad L, Nymo SH, Yndestad A, Aukrust P, Askevold ET. Inflammatory cytokines as biomarkers in heart failure. *Clin Chim Acta*. 2015;443:71-7. Doi: 10.1016/j.cca.2014.09.001
38. Hao Z, Pan Y, Shao W, Lin Q, Zhao X. Graphene-based fully integrated portable nanosensing system for on-line detection of cytokine biomarkers in saliva. *Biosens Bioelectron*. 2019;134:16-23. Doi: 10.1016/j.bios.2019.03.053
39. Wollert KC, Kempf T, Wallentin L. Growth Differentiation Factor 15 as a Biomarker in Cardiovascular Disease. *Clin Chem*. 2017;63(1):140-151. Doi: 10.1373/clinchem.2016.255174
40. Wollert KC, Kempf T. Growth differentiation factor 15 in heart failure: an update. *Curr Heart Fail Rep*. 2012;9(4):337-45. Doi: 10.1007/s11897-012-0113-9
41. Kempf T, Haehling SV, Peter T, Althoff T, Ciccoira M, Doehner W, et al. Prognostic utility of growth differentiation factor-15 in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(11):1054-60. Doi: 10.1016/j.jacc.2007.04.091
42. de Boer RA, Yu L, Veldhuisen DJV. Galectin-3 in cardiac remodeling and heart failure. *Curr Heart Fail Rep*. 2010;7(1):1-8. Doi: 10.1007/s11897-010-0004-x
43. de Boer RA, Voors AA, Muntendam P, Gilst WHV, Veldhuisen DJV. Galectin-3: a novel mediator of heart failure development and progression. *Eur J Heart Fail*. 2009;11(9):811-7. Doi: 10.1093/eurjhf/hfp097
44. Shah RV, Chen-Tournoux AA, Picard MH, Kimmenade RRJV, Januzzi JL. Galectin-3, cardiac structure and function, and long-term mortality in patients with acutely decompensated heart failure. *Eur J Heart Fail*. 2010;12(8):826-32. Doi: 10.1093/eurjhf/hfq091
45. Ho JE, Liu C, Lyass A, Couchesne P, Pencina MJ, Vasan RS, et al. Galectin-3, a marker of cardiac fibrosis, predicts incident heart failure in the Community. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(14):1249-56. Doi: 10.1016/j.jacc.2012.04.053
46. Johnston JR, Chase PB, Pinto JR. Troponin through the looking-glass: emerging roles beyond regulation of striated muscle contraction. 2018;9(1):1461-82. Doi: 10.18632/oncotarget.22879
47. Abdolrahim M, Rabiee M, Alhosseini SN, Tahriri M, Yazdanpanah S, Tayebi L. Development of optical biosensor technologies for cardiac troponin recognition. *Anal Biochem*. 2015;485:1-10. Doi: 10.1016/j.ab.2015.06.003
48. Babuin L, Jaffe AS. Troponin: the biomarker of choice for the detection of cardiac injury. *CMAJ*. 2005;173(10):1191-202. Doi: 10.1503/cmaj/051291.
49. Daubert MA, Jeremias A. The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:691-9. Doi: 10.2147/vhrm.s5306
50. Mouton AJ, Rivera OJ, Lindsey ML. Myocardial infarction remodeling that progresses to heart failure: a signaling misunderstanding. *Am J Physiol HeartCircPhysiol*. 2018;315(1):71-9. Doi: 10.1152/ajpheart.00131.2018
51. Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction—from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Res*. 2016;365(3):563-81. Doi: 10.1007/s00441-016-2431-9
52. Frangogiannis NG. Pathophysiology of Myocardial Infarction. *Comprehensive Physiology*. 2015;5(4). Doi: 10.1002/cphy.c150006
53. Zhang J, Kruss S, Hilmer AJ, Shimizu S, Schmois Z, Cruz FDL, et al. A rapid, direct, quantitative, and label-free detector of cardiac biomarker troponin T using near-infrared fluorescent single-walled carbon nanotube sensors. *Adv Healthc Mater*. 2014;3(3):412-23. Doi: 10.1002/adhm.201300033
54. Peacock WF, De Marco T, Fonarow GC, Diercks D, Wynne J, Apple FS, et al. Cardiac troponin and outcome in acute heart failure. *N Engl J Med*. 2008;358(20):2117-26. Doi: 10.1056/NEJMoa0706824
55. Upasham S, Tanak A, Prasad S. Cardiac troponin biosensors: where are we now? *Advanced Health Care Technologies*. 2018;4:1-13. Doi: 10.2147/AHCT.S138543
56. Latini R, Masson S, Anand IS, Missouf E, Carlson M, Vago T, et al. Prognostic value of very low plasma concentrations of troponin T in patients with stable chronic heart failure. *Circulation*. 2007;116(11):1242-9. Doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.106.655076
57. Chen Y, Tao T, Zhang L, Xu W, Zhou X. Diagnostic and prognostic value of biomarkers in acute myocardial infarction. *Postgrad Med J*. 2019;95(1122):210-16. Doi: 10.1136/postgradmedj-2019-136409
58. Takeda S, Yamashita A, Maeda K, Maeda Y. Structure of the core domain of human cardiac troponin in the Ca(2+)-saturated form. *Nature*. 2003;424(6944):35-41. Doi: 10.1038/nature01780
59. Sevrieva I, Knowles AC, Kampoukaris T, Sun YB. Regulatory domain of troponin moves dynamically during activation of cardiac muscle. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;75:181-187. Doi: 10.1016/j.yjmcc.2014.07.015
60. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36(3):959-69. Doi: 10.1016/s0735-1097(00)00804-4
61. Maisel AS, Bhalla V, Braunwald E. Cardiac biomarkers: a contemporary status report. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2006;3(1):24-34. Doi: 10.1038/ncpcardio0405
62. Wu J, Dong M, Santos S, Rigatto C, Liu Y, Lin F. Lab-on-a-Chip Platforms for Detection of Cardiovascular Disease and Cancer Biomarkers. *Sensors (Basel)*. 2017;17(12):2934. Doi: 10.3390/s17122934
63. Park J, Sunkara V, Kim TH, Hwang H, Cho YK. Lab-on-a-disc for fully integrated multiplex immunoassays. *Anal Chem*. 2012;84(5):2133-40. Doi: 10.1021/ac203163u
64. Vashistha R, Dangi AK, Kumar A, Chhabra D, Shukla P. Futuristic biosensors for cardiac health care: an artificial intelligence approach. 2018;8(8):358. Doi: 10.1007/s13205-018-1368-y
65. Catarino S, Lima R, Minas G. 12 - Smart devices: Lab-on-a-chip. *Bioinspired Materials for Medical Applications*. 2017:331-369. Doi: 10.1016/B978-0-08-100741-9.00012-7
66. Minas GMH, Catarino SO. Lab-on-a-Chip Devices for Chemical Analysis. *Encyclopedia of Microfluidics and Nanofluidics*. 2015:1511-31
67. Pasinszki T, Krebsz M, Tung TT, Losic D. Carbon Nanomaterial Based Biosensors for Non-Invasive Detection of Cancer and Disease Biomarkers for Clinical Diagnosis. *Sensors (Basel)*. 2017;17(8):1919. Doi: 10.3390/s17081919
68. Liu G, Qi M, Zhang Y, Cao C, Goldys EM. Nanocomposites of gold nanoparticles and graphene oxide towards a stable label-free electrochemical immunosensor for detection of cardiac marker troponin-I. *Analitica Chimica Acta*. 2016(909):1-8. Doi: 10.1016/j.aca.2015.12.023
69. Mohammed MI, Desmulliez MPY. Autonomous capillary microfluidic system with embedded optics for improved troponin I cardiac biomarker detection. *Biosens Bioelectron*. 2014;61:478-84. Doi: 10.1016/j.bios.2014.05.042
70. Diware MS, Cho HM, Chegal W, Cho YJ, Kim DS, O SW, et al. Ultrasensitive, label-free detection of cardiac biomarkers with optical SIS sensor. *Biosens Bioelectron*. 2017;87:242-248. Doi: 10.1016/j.bios.2016.08.049
71. Zhou Y, Zhuo Y, Liao N, Chai Y, Yuan R. Ultrasensitive electrochemiluminescent detection of cardiac troponin I based on a self-enhanced Ru(II) complex. *Talanta*. 2014;129:219-26. Doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.012
72. Aliintaz S, Fakanya WM, Tohill IE. Cardiovascular disease detection using bio-sensing techniques. *Talanta*. 2014;128:177-86. Doi: 10.1016/j.talanta.2014.04.060
73. Fathil MFM, Arshad MKM, Gopinath SCB, Hashim U, Adzhri R, Ayub RM, et al. Diagnostics on acute myocardial infarction: Cardiac troponin biomarkers. *Biosens Bioelectron*. 2015;70:209-20. Doi: 10.1016/j.bios.2015.03.037
74. Mohammed M, Desmulliez MPY. Lab-on-a-chip based immunosensor principles and technologies for the detection of cardiac biomarkers: a review. *Lab Chip*. 2011;11:569-95.
75. Bhatnagar D, Palit S, Singh MP, Kaur I, Kumar A. Recent Advances in Cardiac Troponin I Based Sensors for Detection of Human Heart Attack. *Cell Mol Biol*. 2016;62(3):1-6.
76. Qureshi A, Gurbuz Y, Niazi JH. Biosensors for cardiac biomarkers detection: A review. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2012(171-172):62-76. Doi: 10.1016/j.snb.2012.05.077
77. Arshad MKM, Fathil MFBM, Gopinath SCB, Ruslinda AR, Nor MNM, Lam HY, Hashim U. Cardiac Biomarkers: Invasive to Non-invasive Assessments. *Curr Med Chem*. 2016;23(37):4270-84. Doi: 10.2174/0929867323666161004150857

78. Lee T, Ahn JH, Choi J, Lee Y, Kim JM, Park C, et al. Development of the Troponin Detection System Based on the Nanostructure. *Micromachines* (Basel). 2019;10(3):203. Doi: 10.3390/mi10030203
79. Nezami A, Dehglani S, Nosrati R, Eskandari N, Taghdisi SM, Karimi G. Nanomaterial-based biosensors and immunosensors for quantitative determination of cardiac troponins. *J Pharm Biomed Anal*. 2018;159:425-436. Doi: 10.1016/j.jpba.2018.07.031
80. Hasanzadeh M, Shadjou N, Soleymani J, Omidinia E, Guardia MDL. Optical immunosensing of effective cardiac biomarkers on acute myocardial infarction. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2013;51:158-68. Doi: 10.1016/j.trac.2013.06.010
81. Rezaei B, Ghani M, Shoushtari AM, Rabiee M. Electrochemical biosensors based on nanofibers for cardiac biomarker detection: A comprehensive review. *Biosens Bioelectron*. 2016;78:513-523. Doi: 10.1016/j.bios.2015.11.083
82. Han X, Li S, Peng Z, Othman AM, Lebranc R. Recent Development of Cardiac Troponin I Detection. *ACS Sens*. 2016;1(2):106-114. Doi: 10.1021/acssensors.5b00318
83. Gohel V, Jones JA, Wehler CJ. Salivary biomarkers and cardiovascular disease: a systematic review. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(9):1432-1442. Doi: 10.1515/cclm-2017-1018.
84. Gug IT, Tertis M, Hosu O, Cristea C. Salivary biomarkers detection: Analytical and immunological methods overview. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*. 2019;113:301-316. Doi: 10.1016/j.trac.2019.02.020
85. Malon RSP, Sadir S, Balakrishnan M, Córcoles EP. Saliva-based biosensors: noninvasive monitoring tool for clinical diagnostics. *Biomed Res Int*. 2014;2014:962903. Doi: 10.1155/2014/962903
86. Jung DG, Jung D, Kong SH. A Lab-on-a-Chip-Based Non-Invasive Optical Sensor for Measuring Glucose in Saliva. *Sensors* (Basel). 2017;17(11):2607. Doi: 10.3390/s17112607
87. Wei F, Patel P, Liao W, Chaudhry K, Zhang L, Arellano-Garcia M, et al. Electrochemical sensor for multiplex biomarkers detection. *Clin Cancer Res*. 2009;15(13):4446-52. Doi: 10.1158/1078-0432.CCR-09-0050
88. Herr AE, Hatch AV, Throckmorton DJ, Tran HM, Brennan JS, Gannobile WV, et al. Microfluidic immunoassays as rapid saliva-based clinical diagnostics. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2007;104(13):5268-73. Doi: 10.1073/pnas.0607254104
89. Christodoulides N, Mohanty S, Miller CS, Langub MC, Floriano PN, Dharshan P, et al. Application of microchip assays system for the measurement of C-reactive protein in human saliva. *Lab Chip*. 2005;5(3):261-9. Doi: 10.1039/b414194f
90. Chekin F, Vasilescu A, Jijie R, Singh SK, Kurungot S, Iancu M, et al. Sensitive electrochemical detection of cardiac troponin I in serum and saliva by nitrogen-doped porous reduced graphene oxide electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 2018;262:180-87. Doi: 10.1016/j.snb.2018.01.215
91. Rehman SA, Khurshid Z, Niazi FU, Naseem M, Waddani HA, Sahibzada HA, et al. Role of Salivary Biomarkers in Detection of Cardiovascular Diseases (CVD). 2017;5(3):21. Doi: 10.3390/proteomes5030021
92. Punyadeera G. New frontiers in heart failure detection: Saliva testing. *BMJ Innovations*. 2016;2(3):1-3. Doi: 10.1136/bmjinnov-2015-000105
93. Mishra V, Patil R. Evaluation of Salivary Cardiac Troponin-I as Potential Marker for Detection of Acute Myocardial Infarction. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2018;12(7):44-7. Doi: 10.7860/JCDR/2018/32109.11791
94. Mirzaei-Dizgah I, Riahi E. Salivary troponin I as an indicator of myocardial infarction. *Indian J Med Res*. 2013;138(6):861-865.
95. Mirzaei-Dizgah I, Riahi E. Salivary high-sensitivity cardiac troponin T levels in patients with acute myocardial infarction. *Oral Dis*. 2013;19(2):180-4. Doi: 10.1111/j.1601-0825.2012.01968.x
96. Foley JDF, Sneed JD, Steinhubl SR, Kolasa JR, Ebersole JL, Lin Y, et al. Salivary biomarkers associated with myocardial necrosis: results from an alcohol septal ablation model. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. 2012;114(5):616-23. Doi: 10.1016/j.oooo.2012.05.024
97. Miller CS, Foley JD, Floriano PN, Christodoulides N, Ebersole JL, Campbell CL, et al. Utility of salivary biomarkers for demonstrating acute myocardial infarction. *J Dent Res*. 2014;93(7 Suppl):72S-79S. Doi: 10.1177/0022034514537522
98. Floriano PN, Christodoulides N, Miller CS, Ebersole JL, Spertus J, Rose BG, et al. Use of saliva-based nano-biochip tests for acute myocardial infarction at the point of care: a feasibility study. *Clin Chem*. 2009;55(8):1530-8. Doi: 10.1373/clinchem.2008.117713
99. Miller C, Foley JD, Bailey AL, Campbell CL, Humphries RL, Christodoulides N, et al. Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med*. 2010;4(1):171-189. Doi: 10.2217/bmm.09.68
100. Chen X, Dong T, Wei X, Yang Z, Pires NMM, Ren J, et al. Electrochemical methods for detection of biomarkers of Chronic Obstructive Pulmonary Disease in serum and saliva. *Biosens Bioelectron*. 2019;142:111453. Doi: 10.1016/j.bios.2019.111453
101. Catarino SO, Rodrigues RO, Pinho D, Miranda JM, Minas G, Lima R. Blood Cells Separation and Sorting Techniques of Passive Microfluidic Devices: From Fabrication to Applications. *Micromachines* (Basel). 2019;10(9):593. Doi: 10.3390/mi10090593
102. Faustino V, Catarino SO, Pinho D, Lima RA, Minas G. A Passive Microfluidic Device Based on Crossflow Filtration for Cell Separation Measurements: A Spectrophotometric Characterization. *Biosensors* (Basel). 2018;8(4):125. Doi: 10.3390/bios8040125
103. Cui F, Rhee M, Singh A, Tripathi A. Microfluidic Sample Preparation for Medical Diagnostics. *Annu Rev Biomed Eng*. 2015;17:267-86. Doi: 10.1146/annurev-bioeng-071114-040538
104. Helton KL, Nelson KE, Fu E, Yager P. Conditioning saliva for use in a microfluidic biosensor. *Lab Chip*. 2008;8:1847-1851
105. Pinto V, Sousa P, Catarino SO, Correia-Neves M, Minas G. Microfluidic immunosensor for rapid and highly-sensitive salivary cortisol quantification. *Biosens Bioelectron*. 2017;90:308-313. Doi: 10.1016/j.bios.2016.11.067
106. Mishra S, Saadat D, Kwon O, Lee Y, Choi WS, Kim JH, et al. Recent advances in salivary cancer diagnostics enabled by biosensors and bioelectronics. *Biosens Bioelectron*. 2016;81:181-197. Doi: 10.1016/j.bios.2016.02.040
107. Cheng CS, Ou BR, Lung FD. Developing a Biosensor-Based Immunoassay to Detect HPV E6 Oncoprotein in the Saliva Rinse Fluid of Oral Cancer Patients. *J Pers Med*. 2022;12(4):594. Doi: 10.3390/jpm12040594
108. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur Heart J*. 2016;37(42):3232-45. Doi: 10.1093/eurheartj/ehw334
109. Arsego FK, Kubrusly LF, Gewehr DM, Possiedi RD, Nassif PAN, Tabushi FI, et al. Correlação da troponina sanguínea e salivar em pacientes com infarto agudo do miocárdio: estudo preliminar. *SciELO Preprints*. 2024. Doi: 10.1590/SciELOPreprints.8268
110. Voltolini G, Franck CL. Acesso venoso subclávio via fossa supraclavicular guiado por ultrassonografia: é opção segura?. *BioSCIENCE*. 2022;80(2):119-24. Doi: 10.55684/80.2.26
111. Fogaça NS, Bem T de S, Kleeman C, Vanzin JHT, da Rocha B de FM, Kimura RNY. Análise da automedicação durante a pandemia do COVID-19. *BioSCIENCE*. 2022;80(2):79-82. Doi: 10.55684/80.2.18