

Avaliação dos valores séricos de troponina I cardíaca em crianças menores de 1 ano de idade

Evaluation of serum cardiac troponin I values in children less than 1 year of age

Antonio Carlos Arruda SOUTO¹, Werther Brunow de CARVALHO²

RBCCV 44205-1003

Resumo

Objetivo: Verificar os valores séricos para troponina I cardíaca em crianças abaixo de um ano de idade, sem disfunção cardíaca clínica.

Métodos: Os níveis séricos de troponina I cardíaca foram determinados em 99 crianças com idade abaixo de um ano, incluindo-se recém-nascidos a termo, sem doenças relacionadas a comprometimento da função cardíaca identificável clinicamente, por meio do kit específico Opus T Troponin I (cTn) (Dade Behring Inc. - Newalk, DE 19714, USA).

Resultados: A dosagem sérica de troponina I cardíaca apresentou, em todos os pacientes, valor menor que 0,1 ng/ml.

Conclusão: Verificamos que o valor da dosagem sérica de troponina I cardíaca é menor do que 0,1 ng/ml para pacientes pediátricos, sem disfunção cardíaca, desde recém-nascidos a termo até um ano de idade, quando realizada por meio do kit Opus T Troponin I (cTn) test modules.

Descritores: Criança. Troponina I/sangue. Valores de referência.

Abstract

Objective: The objective is to verify the cardiac troponin I values in children less than 1 year of age without clinical cardiac dysfunction.

Methods: The cardiac troponin I values were determined in 99 children less than 1 year of age, including term infants without diseases related to cardiac dysfunction using the specific kit Opus T Troponin I (cTn) (Dade Behring Inc. - Newalk, DE 19714, USA).

Results: All children have values of cardiac troponin I less than 0.1 ng/ml.

Conclusion: We verified that the cardiac troponin I value is less than 0.1 ng/ml in children less than 1 year, including term infants without cardiac dysfunction, when analyzed by the kit Opus T Troponin I (cTn) test modules.

Descriptors: Child. Troponin I/blood. Reference values.

INTRODUÇÃO

Descobertas em 1963 por Setsuro Ebashi [1], as troponinas formam um complexo de proteínas que modula a velocidade e a força da contração muscular estriada. O complexo é formado por três subunidades: a troponina T (TnT), responsável pelo ancoramento do complexo à tropomiosina; a troponina C (TnC), que se liga ao cálcio regulando a contração muscular; e a troponina I (TnI), que atua como unidade inibitória da contração muscular [2].

A TnI pode ser encontrada em três isoformas, com diferentes estruturas protéicas, determinadas por genes distintos e específicos para cada isoforma [3]. Duas isoformas estão presentes na musculatura esquelética, uma nas fibras de contração rápida e outra nas de contração lenta. A terceira isoforma, presente no miocárdio, é chamada de Troponina I cardíaca (Tic) [4].

A diferença estrutural entre as isoformas de TnI permitiu que Cummins et al. [5] desenvolvessem o primeiro radioimunoensaio capaz de identificar a liberação de Tic

1. Mestre em Medicina; Médico-chefe da UTI pediátrica do Hospital Padre Albino.
2. Professor Livre-docente da Disciplina de Especialidades Pediátricas do Departamento de Pediatria da UNIFESP-EPM.

Endereço para correspondência:
Antonio Carlos Arruda Souto. Rua Avaí, 100 - Catanduva - SP - Brasil
- CEP 15800-150. Brasil. Tel/Fax: 55 17 3523-1247.
E-mail: acasouto@terra.com.br

Trabalho realizado na Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, São Paulo, SP, Brasil.

Artigo recebido em 26 de março de 2008
Artigo aprovado em 28 de julho de 2008

no infarto agudo do miocárdio (IAM) e publicassem seus resultados em 1987.

O aprimoramento do método [6] e o grande número de trabalhos investigando a utilidade do mesmo no diagnóstico de lesão miocárdica [7] fizeram com que este se tornasse um dos principais marcadores bioquímicos do IAM [8].

Em pediatria, as pesquisas se concentram na utilização deste marcador no diagnóstico de lesão miocárdica relacionada à correção cirúrgica de cardiopatias congênitas. Estes estudos demonstram a aplicação do método em diferentes situações, desde o diagnóstico de eventos que acompanham a realização de procedimentos operatórios até a sua utilização como marcador prognóstico [9-12].

A dosagem de Tlc também tem se apresentado como um importante método auxiliar na condução de outras afecções pediátricas como na miocardite [13], na sepse [14] e na doença de Kawasaki [15], doenças onde a disfunção cardíaca é um evento comum.

Para uma adequada utilização de marcadores bioquímicos na prática clínica diária, é necessário que se definam quais os valores de referência [16]. Alguns estudos têm surgido com essa finalidade, encontrando resultados em pediatria semelhantes às pesquisas em adultos [17], porém, outros têm apresentado valores elevados de Tlc em crianças abaixo de um ano de vida [18,19].

A indefinição com relação aos valores de referência para Tlc em pediatria e a importância deste método diagnóstico, por suas características e aplicabilidade, motivaram a realização desta pesquisa.

MÉTODOS

Pesquisa realizada após aprovação pela Comissão de Ética em Pesquisa das instituições envolvidas, caracterizando-se por ser um estudo clínico, prospectivo, não randomizado, observacional, para o aprimoramento de novas formas diagnósticas.

Entre os dias 15 de janeiro de 2003 e 13 de fevereiro do mesmo ano, 99 crianças com idade abaixo de 1 ano foram incluídas no estudo, após a assinatura, pelo responsável legal, do termo de consentimento livre e esclarecido, sendo submetidos à dosagem de Tlc.

As crianças envolvidas no estudo preencheram critérios de inclusão onde deveriam apresentar idade abaixo de um ano, incluindo recém-nascidos a termo, ausência de cardiopatias diagnosticadas previamente ou qualquer condição clínica que se relacione de alguma maneira com disfunção cardíaca, estabilidade hemodinâmica, determinada por avaliação clínica, sem o uso de suporte mecânico ou farmacológico.

Foram divididos em dois grupos, de acordo com a faixa etária. O grupo I, com recém-nascidos até 28 dias de vida. O grupo II com lactentes, entre 29 dias de vida e um ano. Os

recém-nascidos do grupo I foram submetidos a coleta no momento da realização de exames de rotina do berçário e as crianças do grupo II, no momento da realização de exames ambulatoriais pré-operatórios e para acompanhamento de puericultura, exames solicitados por profissionais que não estavam envolvidos no estudo.

A coleta das amostras, o armazenamento e a realização do ensaio obedeceram às orientações do fabricante e literatura pertinente.

As amostras foram coletadas, usando-se técnicas convencionais de venipuntura periférica, preferivelmente em região cubital direita, com seringa plástica e agulha descartáveis, sem adição de solução anticoagulante.

Após a coleta da amostra, 2 ml de sangue foram colocados em tubo de vidro e encaminhados para que se separasse o soro por meio da centrifugação a 3000 rpm, por 10 minutos. O soro separado foi armazenado em tubo de vidro, sob temperatura de +3°C. As amostras permaneceram armazenadas, em média, por 24 horas, não ultrapassando um período de 72 horas de armazenamento até a dosagem de Tlc.

Para análise das amostras foi utilizado o kit específico Opus T Troponin I (cTn) test modules (Dade Behring Inc. - Newalk, DE 19714, USA) e o aparelho Opus plus® analyzer (Behring Diagnostics Inc. - Westwood, MA 02090, USA).

O ensaio é baseado no princípio de um imunoenensaio fluorogênico ligado à enzima tipo "sanduíche" (anticorpo-antígeno-anticorpo ligado), ou de dois sítios, com anticorpos monoclonais de rato, antitroponina I cardíaca.

A análise é realizada automaticamente pelo analisador Opus plus®.

A concentração é reportada em nanogramas por mililitros (ng/ml) de soro.

A faixa de ensaio do método é de 0,1 a 50,0 ng/ml.

A sensibilidade analítica do ensaio é de 0,1 ng/ml, sendo que todos os valores abaixo deste são referidos como < 0,1 ng/ml pelo analisador. O valor de referência para normalidade estabelecido pelo laboratório é menor do que 0,5 ng/ml.

RESULTADOS

Foram incluídas 99 crianças no estudo, as quais foram submetidas a dosagem de Tlc e divididas em dois grupos: o grupo I, com 74 recém-nascidos, 35 do gênero masculino ($3,18 \pm 0,44$ kg) e 39 do gênero feminino ($3,14 \pm 0,42$ kg); e o grupo II, com 25 lactentes, 16 do gênero masculino ($8,5 \pm 2,4$ kg) e 9 do gênero feminino ($8,2 \pm 1,0$ kg).

Os recém-nascidos do grupo I foram submetidos a coleta no primeiro dia de vida, com exceção de um submetido a coleta no 13º dia de vida. A média de idade dos lactentes do grupo II no momento da coleta foi de $7,6 \pm 2,8$ meses para o grupo masculino e $8,2 \pm 1,9$ meses para o grupo feminino.

A dosagem de Tlc foi encontrada abaixo da

sensibilidade analítica do ensaio, 0,1 ng/ml, em todas as crianças, tendo sido reportada como < 0,1 ng/ml pelo analisador (Opus plus).

DISCUSSÃO

Os resultados de nosso estudo vão ao encontro dos resultados de outros trabalhos que têm observado valores normais de T1c em pacientes pediátricos sem lesão miocárdica [17]. A distribuição de todos os valores encontrados dentro da faixa de referência para normalidade (< 0,1 ng/ml) não é um fato inesperado, uma vez que os dados de literatura relacionam ao método uma alta especificidade [20] e a população estudada não apresentava nenhum dado clínico que sugerisse a existência de lesão miocárdica, o que foi determinado pelos critérios de inclusão no estudo.

Entre os estudos encontram-se duas publicações, que tiveram por objetivo definir valores de referência na população pediátrica, onde os autores consideraram um novo e excitante dado ter, como resultado, uma grande porcentagem de pacientes no primeiro ano de vida apresentando valores elevados de T1c [18,19].

Os autores dessas publicações sugerem que o aumento dos níveis séricos de T1c está relacionado a apoptose de células miocárdicas. No entanto, é difícil se estabelecer esta relação, pois a apoptose é um fenômeno fisiológico com um importante papel no desenvolvimento de vários órgãos, sendo suprimida no início da vida extra-uterina e, apesar da denominação de morte celular, ocorre usualmente em células isoladas e não se acompanha de processo inflamatório. As células sofrem uma herniação da membrana celular, redução de seu volume, condensação da cromatina nuclear e, finalmente, são fagocitadas por macrófagos e células vizinhas [21-23].

Uma importante consideração a ser feita, quando se comparam resultados de diferentes estudos, é a influência da metodologia utilizada. Existe uma grande variabilidade de resultados entre um método e outro [24].

Esta variabilidade está relacionada à série de processos que irão alterar a forma de apresentação da T1c após a sua liberação. Somente 10% da T1c liberada mantêm-se na forma livre, os outros 90% formam complexos, principalmente com a troponina C, além disso, a T1c também pode ser submetida a um processo de proteólise e outros processos bioquímicos que a tornará oxidada ou reduzida. Estas várias alterações interferem na reação da T1c com os anticorpos específicos presentes nos diferentes métodos e, conseqüentemente, com seus resultados [25].

O método utilizado em nosso estudo, Opus T Troponin I (cTn) test modules (Dade Behring Inc. - Newalk, DE 19714, USA), foi escolhido por ser um método comercial, com o qual já se desenvolveu uma importante habilidade no uso diário e se encontrava disponível em nossa instituição.

O uso diário da dosagem sérica de T1c no diagnóstico de IAM em pacientes adultos, por meio deste método, tem gerado resultados que vão ao encontro dos dados da literatura com relação à sensibilidade, especificidade e evolução temporal, fazendo com que este venha sendo uma importante ferramenta auxiliar no diagnóstico e acompanhamento desses pacientes [20].

O nosso resultado não permitiu a realização de processos estatísticos porque, como a sensibilidade analítica do método é de 0,1 ng/ml, com o analisador Opus Plus referindo os valores abaixo deste, como menores que 0,1 ng/ml, nosso resultado deixou de se caracterizar como variável quantitativa e se tornou qualitativa, não apresentando variação.

Levin [26] define a Estatística como "...um conjunto de técnicas para a redução de dados quantitativos (ou seja, uma série de números) a um número menor de termos descritivos que sejam mais convenientes, e facilmente comunicáveis".

Levando-se em consideração a caracterização de nosso resultado e a definição de Levin, acreditamos ser justificável que não se aplique delineamento estatístico ao nosso estudo, no entanto, isso não interfere na avaliação com relação à aplicabilidade, uma vez que a distribuição de todos os valores abaixo de 0,1 ng/ml permite a conclusão que todos apresentaram valores normais, independente de sua variação dentro deste intervalo.

Após a avaliação dos dados apresentados, torna-se difícil justificar o achado de valores elevados de T1c em crianças normais, ao contrário, acreditamos que esses dados tornam o resultado de nosso estudo esperado e justificam a forma incisiva como esse resultado se apresentou, o que vem se repetindo em estudos recentemente publicados [27,28].

Apesar da variabilidade de resultados encontrados entre os diferentes métodos, a utilização deste marcador bioquímico de lesão miocárdica tem assumido um importante papel no diagnóstico e acompanhamento dos pacientes. É importante que a interpretação dos resultados na prática diária seja feita de forma relativa aos padrões laboratoriais locais e não comparativamente a outros métodos.

Novos estudos são necessários para investigar os vários aspectos relacionados à dosagem de T1c sérica e sua aplicabilidade.

CONCLUSÃO

Concluimos que o valor referência da dosagem de Troponina I cardíaca sérica, quando realizada por meio do método *Opus T Troponin I (cTn) test modules* (Dade Behring Inc.-Newalk, DE 19714, USA), para crianças menores de um ano de idade, incluindo recém-nascidos a termo, é um resultado menor que 0,1 ng/ml.

AGRADECIMENTOS

Estudo realizado no Programa de Pós-graduação da Universidade Federal de São Paulo - Escola Paulista de Medicina, sob a orientação do Dr. Werther Brunow de Carvalho.

Agradeço as observações feitas pelos membros da banca examinadora, Dr. Domingo Marcolino Braile, Dr. Eduardo Juan Troster e Dr. Heitor Pons Leite, as quais foram importantes na elaboração desta publicação.

REFERÊNCIAS

1. Ebashi S. Third component participating in the superprecipitation of "natural actomyosin". *Nature*. 1963;200:1010.
2. Katus HA, Scheffold T, Remppis A, Zehlein J. Proteins of the troponin complex. *Lab Med*. 1992;23(5):311-7.
3. Wade R, Kedes L. Developmental regulation of contractile protein genes. *Annu Rev Physiol*. 1989;51:179-88.
4. Hunkeler NM, Kullman J, Murphy AM. Troponin I isoform expression in human heart. *Circ Res*. 1991;69(5):1409-14.
5. Cummins B, Auckland ML, Cummins P. Cardiac-specific troponin-I radioimmunoassay in the diagnosis of acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1987;113(6):1333-44.
6. Heesch C, Goldmann BU, Moeller RH, Hamm CW. Analytical performance and clinical application of a new rapid bedside assay for the detection of serum cardiac troponin I. *Clin Chem*. 1998;44(9):1925-30.
7. Panteghini M, Bonora R, Pagani F. Rapid and specific immunoassay for cardiac troponin I in the diagnosis of myocardial damage. *Int J Clin Lab Res*. 1997;27(1):60-4.
8. Myocardial infarction redefined: a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2000;21(18):1502-13.
9. Salerno PR, Jatene FB, Figueiredo PE, Bosisio IJ, Jatene MB, Santos MA, et al. Comportamento da troponina I e CK-MB massa em crianças submetidas a correção cirúrgica das cardiopatias congênitas. *Rev Bras Cir Cardiovasc*. 2003;18(3):235-41.
10. Montgomery VL, Sullivan JE, Buchino JJ. Prognostic value of pre- and postoperative cardiac troponin I measurement in children having cardiac surgery. *Pediatr Dev Pathol*. 2000;3(1):53-60.
11. Hammer S, Loeff M, Reichenspurner H, Daebritz S, Tiete A, Kozlik-Feldmann R, et al. Effect of cardiopulmonary bypass on myocardial function, damage and inflammation after cardiac surgery in newborns and children. *Thorac Cardiovasc Surg*. 2001;49(6):349-54.
12. Kannankeril PJ, Pahl E, Wax DF. Usefulness of troponin I as a marker of myocardial injury after pediatric cardiac catheterization. *Am J Cardiol*. 2002;90(10):1128-32.
13. Briassoulis G, Papadopoulos G, Zavras N, Pailopoulos V, Hatzis T, Thanopoulos V. Cardiac troponin I in fulminant adenovirus myocarditis treated with a 24-hour infusion of high-dose intravenous immunoglobulin. *Pediatr Cardiol*. 2000;21(4):391-4.
14. Thiru Y, Pathan N, Bignall S, Habibi P, Levin M. A myocardial cytotoxic process is involved in the cardiac dysfunction of meningococcal septic shock. *Crit Care Med*. 2000;28(8):2979-83.
15. Checchia PA, Borensztajn J, Shulman ST. Circulating cardiac troponin I levels in Kawasaki disease. *Pediatr Cardiol*. 2001;22(2):102-6.
16. Sunderman FW Jr. Current concepts of "normal values", "reference values", and "discrimination values", in clinical chemistry. *Clin Chem*. 1975;21(13):1873-7.
17. Hirsch R, Landt Y, Porter S, Canter CE, Jaffe AS, Ladenson JH, et al. Cardiac troponin I in pediatrics: normal values and potential use in the assessment of cardiac injury. *J Pediatr*. 1997;130(6):872-7.
18. Soldin SJ, Murthy JN, Agarwalla PK, Ojeifo O, Chea J. Pediatric reference ranges for creatine kinase, CKMB, Troponin I, iron and cortisol. *Clin Biochem*. 1999;32(1):77-80.
19. Quivers ES, Murthy JN, Soldin SJ. The effect of gestational age, birth weight, and disease on troponin I and creatine kinase MB in the first year of life. *Clin Biochem*. 1999;32(6):419-21.
20. Sanhai WR, Romero LF, Hickey G, Ruttle D, Christenson RH. Performance characteristics of a revised cardiac Troponin I assay for the Opus plus immunoassay system. *Clin Biochem*. 2001;34(7):579-82.
21. Poelmann RE, Molin D, Wisse LJ, Gittenberger-de Groot AC. Apoptosis in cardiac development. *Cell Tissue Res*. 2000;301(1):43-52.
22. Malamitsi-Puchner A, Sarandakou A, Tziotis J, Trika P, Creatsas G. Evidence for a suppression of apoptosis in early postnatal life. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2001;80(11):994-7.

23. James TN. Normal and abnormal consequences of apoptosis in the human heart. From postnatal morphogenesis to paroxysmal arrhythmias. *Circulation*. 1994;90(1):556-73.
24. Wu AH, Feng YJ, Moore R, Apple FS, McPherson PH, Buechler KF, et al. Characterization of cardiac troponin subunit release into serum after acute myocardial infarction and comparison of assays for troponin T and I. American Association for Clinical Chemistry Subcommittee on cTnI Standardization. *Clin Chem*. 1998;44(6 Pt 1):1198-208.
25. Shi Q, Ling M, Zhang X, Zhang M, Kadjevic L, Liu S, et al. Degradation of cardiac troponin I in serum complicates comparisons of cardiac troponin I assays. *Clin Chem*. 1999;45(7):1018-25.
26. Levin J. Por que o pesquisador usa estatística?. In: Levin J, editor. *Estatística aplicada a ciências humanas*. 2ª ed. São Paulo:Harbra;1987. p.1-12.
27. Trevisanuto D, Pitton M, Altinier S, Zaninotto M, Plebani M, Zanardo V. Cardiac troponin I, cardiac troponin T and creatine kinase MB concentrations in umbilical cord blood of healthy term neonates. *Acta Paediatr*. 2003;92(12):1463-7.
28. Ramakrishnan KA, McCabe S, McNicholas J, Litherland P, Papachan VJ. Cardiac troponin T levels in infants less than 9 months of age undergoing cardiac surgery. *Pediatr Crit Care Med*. 2005;6(2):246.