

Высокочувствительные сердечные тропонины (hs-Tn): методы определения и основные аналитические характеристики

Чаулин А. М.^{1,2}, Абашина О. Е.¹, Дупляков Д. В.^{1,2}

¹ГБУЗ «Самарский областной клинический кардиологический диспансер». Самара; ²ФГБОУ ВО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России. Самара, Россия

В последнее время произошли некоторые важные изменения в лабораторной диагностике пациентов с острым коронарным синдромом, в связи с введением в рутинную практику новых высоко- и ультрачувствительных методов определения специфичных для сердечной мышечной ткани биомаркеров повреждения — сердечных тропонинов. Каждый метод определения сердечных тропонинов, среди существующего большого разнообразия тропониновых иммуноанализов, обладает разными аналитическими характеристиками и позволяет детектировать разные концентрации тропонинов у одного и того же пациента. Ввиду того, что все больше компаний по разработке высокочувствительных тропониновых иммуноанализов получают одобрение регулирующих организаций, возникает острая необходимость в независимой аналитической и клинической оценке каждого метода. В настоящей статье рассмотрены высоко- и ультрачувствительные методы определения сердечных тропонинов. Описаны современные данные о биохимии и метаболизме тропонинов, полученные при помощи высоко- и ультрачувствительных методов определения: гендерные, возрастные, циркадные особенности и возможности исследования тропонинов в других биологических жидкостях. Значительное внимание уделено обсуждению аналитических характеристик тропониновых иммуноанализов: пределу

обнаружения (минимальной определяемой концентрации), пределу бланка, пределу количественного определения, коэффициенту вариации, а также 99-перцентилю и влияющим на него факторам.

Ключевые слова: тропонины, высокочувствительные тропонины, лабораторная диагностика, сердечно-сосудистые заболевания, острый инфаркт миокарда, высокочувствительные анализы, предел обнаружения, 99 перцентиль, коэффициент вариации.

Отношения и деятельность: нет.

ISSN 1728-8800 (Print)
ISSN 2619-0125 (Online)

Поступила 01/06-2020

Рецензия получена 10/06-2020

Принята к публикации 21/06-2020



Для цитирования: Чаулин А. М., Абашина О. Е., Дупляков Д. В. Высокочувствительные сердечные тропонины (hs-Tn): методы определения и основные аналитические характеристики. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2021;20(2):2590. doi:10.15829/1728-8800-2021-2590

High-sensitivity cardiac troponins: detection and central analytical characteristics

Chaulin A. M.^{1,2}, Abashina O. E.¹, Duplyakov D. V.^{1,2}

¹Samara Regional Clinical Cardiology Dispensary. Samara; ²Samara State Medical University. Samara, Russia

Recently, there have been some important changes in the laboratory diagnosis of patients with acute coronary syndrome, due to the introduction into routine practice of new high- and ultra-sensitive techniques for detection of myocardial damage biomarkers — cardiac troponins. Each method for cardiac troponins' detection, among the existing wide variety of troponin immunoassays, has different analytical characteristics and allows the detection of different concentrations of troponins in the same patient. With an increasing number of companies developing high-sensitivity troponin immunoassays receiving regulatory approval, there is an urgent need for independent analytical and clinical evaluation of each method. This article discusses high- and ultra-sensitive techniques for detection of cardiac troponins. The modern data on biochemical and metabolic characteristics of troponins, obtained using high- and ultra-sensitive techniques, are described: sex, age, circadian features and potential for detecting troponins in other biological fluids. Considerable attention is paid to the analytical characteristics of troponin immunoassays: limit of blank, limit of detection and limit of quantitation, coefficient of variation, as well as the 99th percentile and factors influencing it.

Keywords: troponins, high-sensitivity troponins, laboratory diagnostics, cardiovascular diseases, acute myocardial infarction, high-sensitivity analyzes, limit of detection, 99th percentile, coefficient of variation.

Relationships and Activities: none.

Chaulin A. M. ORCID: 0000-0002-2712-0227, Abashina O. E. ORCID: 0000-0002-5302-6381, Duplyakov D. V.* ORCID: 0000-0002-6453-2976.

*Corresponding author: duplyakov@yahoo.com

Received: 01/06-2020

Revision Received: 10/06-2020

Accepted: 21/06-2020

For citation: Chaulin A. M., Abashina O. E., Duplyakov D. V. High-sensitivity cardiac troponins: detection and central analytical characteristics. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2021;20(2):2590. (In Russ.) doi:10.15829/1728-8800-2021-2590

*Автор, ответственный за переписку (Corresponding author):

E-mail: duplyakov@yahoo.com

[Чаулин А. М. — врач клинической лабораторной диагностики клиничко-диагностической лаборатории, очный аспирант, ассистент кафедры гистологии и эмбриологии, ORCID: 0000-0002-2712-0227, Абашина О. Е. — очный аспирант кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии Института профессионального образования, ORCID: 0000-0002-5302-6381, Дупляков Д. В.* — д.м.н., зам. главного врача по медицинской части, профессор кафедры кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии Института профессионального образования, ORCID: 0000-0002-6453-2976].

КМЦ — кардиомиоциты, ОИМ — острый инфаркт миокарда, cTnI, cTnT, cTnC — сердечные тропонины I, T и C, hs-cTnI, hs-cTnT — высокочувствительные сердечные тропонины I и T, CK-MB — креатинкиназа-MB изоформа, IFCC — Международная федерация клинической химии, LoB — предел бланка, LoD — предел детекции (минимальная определяемая концентрация), LoQ — предел количественного определения, CV — коэффициент вариации.

Введение

Тропоновый комплекс сердечной поперечнополосатой мышцы человека состоит из трех белков тропонинов (cTnI, cTnT и cTnC), в норме регулирующих процессы оптимального сокращения и расслабления миокарда [1]. Структура (аминокислотный состав) тропоновых белков миокарда определяет функционирование всего миокарда. Обнаружено большое количество незначительных мутаций (по типу замены или делеции одного-нескольких нуклеотидов), которые, тем не менее, вызывают значительные нарушения функционирования миокарда, и ответственны за развитие кардиомиопатий [2, 3]. Аминокислотный состав двух из трех тропоновых белков миокарда (cTnI, cTnT) отличается от структуры тропонов скелетной поперечнополосатой мускулатуры, тогда как аминокислотный состав кальций-связывающей субъединицы (cTnC) аналогичен таковому в скелетных мышцах. Кардиоспецифические тропонины (cTnI, cTnT) локализованы преимущественно в миокарде, но в то же время существует подтверждение экспрессии тропонов в поперечнополосатой мышечной ткани, а также в стенке полых и легочных вен [1, 4-8]. По этой причине их все-таки нельзя считать абсолютными кардиоспецифическими биомаркерами.

Общее содержание cTnI и cTnT в миокарде человека составляет 4,0-6,0 мг и 10,0-11,0 мг на 1 г влажного веса ткани, соответственно. Основная часть тропонов (~95%) находится в составе тропонин-тропомиозинового комплекса (контрактильного аппарата) и регулирует сократительную

функцию, тогда как ~5% тропоновых белков свободно располагается в цитозоле кардиомиоцитов (КМЦ) (рисунок 1) и не принимает участия в контрактильной функции миокарда [9-11].

На сегодняшний день сердечные тропонины (cTnI и cTnT), продолжают оставаться наиболее востребованными биомаркерами для диагностики острого инфаркта миокарда (ОИМ), однако они имеют ряд недостатков: относительно позднее время установления факта гибели КМЦ, недостаточная специфичность в отношении ишемического некроза КМЦ. Поэтому cTnI и cTnT можно считать специфическими биомаркерами повреждения клеток миокарда, но нельзя считать специфическими биомаркерами ОИМ и при постановке данного диагноза полагаться только на результаты лабораторного исследования. Повышение уровня тропонов на ранних стадиях патологических процессов (ОИМ, миокардит и др.), также не позволяет дифференцировать необратимое повреждение от обратимого, поскольку концентрация тропонов на ранних стадиях невысока и может быть связана с их цитозольной фракцией. КМЦ могут повреждаться при многих физиологических (физическая нагрузка, психоэмоциональные стрессы) и патологических состояниях (миокардиты, сепсис, почечная недостаточность, химиотерапевтическое лечение онкологических заболеваний и др.), которые не ассоциированы с ОИМ, что, с одной стороны, дает дополнительные диагностические возможности, а с другой — может затруднить дифференциальную диагностику ОИМ от данных состояний [12-14]. Механизмы повреждения КМЦ и последующее повышение уровня тропонов при вышеуказанных состояниях окончательно не установлено, динамика (кинетика) концентрации, как правило, неспецифична и может быть схожа с кинетикой при ОИМ. Весьма вероятно, что механизмы повреждения множественные и носят комплексный характер. Например, при сепсисе было отмечено как прямое повреждающее действие воспалительных цитокинов и повышение потребности миокарда в кислороде, что в некотором роде схоже с механизмами развития инфаркта миокарда 2-го типа. При почечной недостаточности за рост тропонов в сыворотке ответственным механизмом, по одним данным, является снижение скорости клубочковой фильтрации [15, 16], а по другим, — прямое повреждающее действие аккумулируемых токсичных продуктов метаболизма и активация экспрессии сердечных тропонов в скелетных мышцах [5, 17]. При физиологических состояниях, напри-

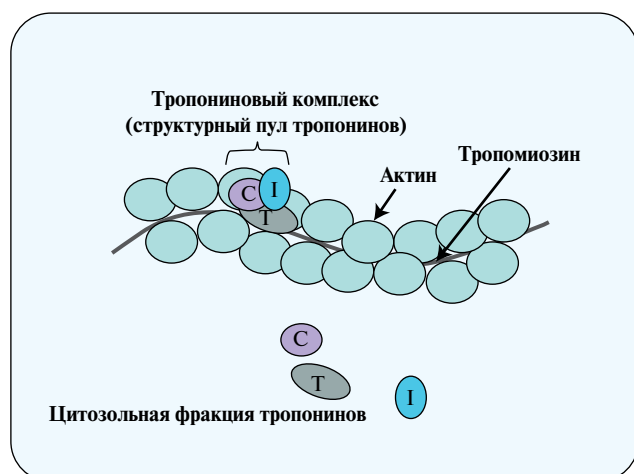


Рис. 1 Расположение тропонов в КМЦ (схема).

мер, длительных нагрузках, психоэмоциональных стрессах или транзиторных эпизодах ишемии, повреждение КМЦ носит, как правило, обратимый характер, и уровень тропонинов в сыворотке повышается за счет высвобождения тех тропонинов, которые свободно расположены в КМЦ. В то же время, при очень тяжелых и длительных нагрузках, например, при беге на марафонскую дистанцию, уровень тропонинов возрастает в десятки раз, что может свидетельствовать о необратимом повреждении (деструкции и высвобождении тропонинов из контрактильного аппарата) и гибели КМЦ.

Разработка и внедрение высокочувствительных методов определения тропонинов (hs-cTnI и hs-cTnT) значительно расширило диагностические возможности и перспективы использования этих биомаркеров [12, 13]. Как правило, неблагоприятным прогностическим признаком считается превышение концентрации hs-cTnI и hs-cTnT >99 перцентиля — концентрации тропонина, которая является у 99% истинно здоровых лиц и только у 1% истинно здоровых обследуемых людей допускается повышенный результат.

При помощи высокочувствительных методов было установлено, что концентрация тропонинов зависит от биологических особенностей: гендерной принадлежности, возраста и циркадных ритмов [18]. Так, уровень кардиоспецифических тропонинов у мужчин выше, чем у женщин, что рекомендуется использовать для установления значений 99 перцентиля, используемого в современных диагностических алгоритмах диагностики ОИМ [19]. Более высокий уровень кардиальных тропонинов у мужчин объясняется тем, что масса левого желудочка у них больше, чем у женщин [20, 21]. Возрастные особенности уровня тропонинов заключаются в том, что у пожилых пациентов концентрации выше, чем у молодых. Предполагается, что это может быть связано с наличием коморбидности, которая может негативно воздействовать на КМЦ [22, 23]. Кроме того, уровень тропонина Т несколько выше в утренние часы, чем в вечерние как у здоровых пациентов [18, 24], так и у пациентов с почечной недостаточностью [25]. Точные механизмы формирования циркадных особенностей концентрации кардиальных тропонинов не установлены, но можно предположить, что это связано с циркадными особенностями других систем человека, которые в той или иной степени воздействуют на сердечно-сосудистую систему, в частности, с активацией симпатoadреналовой и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем, ростом частоты сердечных сокращений и артериального давления, а также с активацией системы гемостаза. Такие особенности сложились эволюционно и необходимы здоровому человеку в период бодрствования, однако они способны оказать дополнительное не-

благоприятное воздействие при наличии дополнительных факторов риска (например, атеросклероза) и хронических сердечно-сосудистых заболеваний (стенокардии, транзиторных ишемических атак) [26]. Возрастные и циркадные особенности уровня сердечных тропонинов изучены недостаточно, а имеющиеся по этому вопросу данные противоречивы, из-за чего они пока не нашли использования в рутинной практике.

Основной биологической жидкостью для определения уровня тропонинов является кровь. Однако с появлением высокочувствительных методов появилась возможность определять тропонины в других биологических жидкостях, которые можно получать неинвазивным путем, что является еще одним важным и перспективным преимуществом. Получение данного биоматериала от пациентов атравматично и безболезненно, снижает риск развития гемоконтактных инфекций (вирус иммунодефицита человека, вирусные гепатиты и др.), а также не требует обученного медицинского персонала, и забор биоматериала может осуществляться самим пациентом в домашних условиях. Например, концентрации тропонинов в моче довольно малы и не улавливаются умеренночувствительными тест-системами, тогда как при использовании высокочувствительного метода исследования hs-TnT был обнаружен в утренней моче у всех обследуемых, причем в моче пациентов, страдающих гипертонией, уровни hs-TnT были достоверно выше, чем у пациентов с нормальным артериальным давлением [27]. Другим перспективным неинвазивным биоматериалом для диагностики многих эндокринных, онкологических и сердечно-сосудистых заболеваний, включая ОИМ, является ротовая жидкость [28-31].

Методы определения сердечных тропонинов: краткая история развития тропониновых иммуноанализов

Определение тропонинов в крови осуществляется при помощи целого ряда различных иммунохимических методов (радиоиммунный анализ, иммуноферментный анализ, иммунофлюоресцентный и иммунохемилюминесцентный анализы), основной принцип метода которых включает несколько последовательных стадий: иммунологическую, химическую, детекции. На первой (иммунологической) стадии происходит специфическое взаимодействие диагностических антител коммерческого набора с антигеном, которым в данном случае является тропонин. На второй стадии и третьей стадиях происходит либо дополнительная иммунологическая реакция антител и образование комплекса типа сэндвич, либо химическая (ферментативная) реакция и регистрация полученного сигнала. Способы детекции сигнала также различаются в зависимости от используемой метки антител: в случае иммуноферментного анализа оценивается интен-

сивность окраски при помощи фотометра/спектрофотометра; в случае радиоиммунного анализа, где в качестве метки используются радиоизотопы (радионуклиды) оценивается радиометром (радиоспектрометром), а в случае использования флуорофоров регистрация сигнала осуществляется на флуориметре. Уровень (сила) развившегося сигнала прямо пропорциональна концентрации тропонинов в биообразце. Результат чаще выражается в количественных значениях (нг/мл, нг/л, мкг/л), или же проводится визуальная оценка количества образовавшихся полосок, что характерно для качественных методов (диагностические тест-полоски), используемых у постели пациента.

Разработка методов иммунного анализа для определения сердечных тропонинов началась ~35 лет назад и характеризовалась постепенным улучшением аналитических параметров и, как следствие, диагностических возможностей. Самый первый метод для определения cTnI, в основе которого лежал радиоиммунный анализ, был разработан в 1987г. Он имел порог обнаружения 10 мкг/л (10000 нг/л) и время выполнения было довольно длительным (1-2 дня). В связи с такой низкой чувствительностью и длительностью проведения исследования время выявления диагностически значимых концентраций тропонина в крови было поздним, и данный метод мог выявлять только обширные инфаркты миокарда, поэтому тропонин I значительно уступал активно используемому в те времена энзиму креатинкиназе-МВ (СК-МВ), которая считалась “золотым стандартом” диагностики ОИМ [32]. Через несколько лет Katus HA, et al. представили первый полностью автоматизированный метод иммуноферментного анализа (ИФА, ELISA) для определения тропонина Т с пределом обнаружения 100 нг/л и временем на выполнение анализа 90 мин. Пиковые концентрации тропонина Т коррелировали с пиковыми уровнями СК-МВ. Этот иммуноанализ, также называемый “методом анализа первого поколения” превосходил стандартные биомаркеры, используемые в то время для диагностики ОИМ [33]. Однако данный метод имел существенный недостаток, заключающийся в перекрестной реакции диагностических антител с изоформами тропонинов, характерными для скелетных мышц, и высоким процентом положительных результатов при заболеваниях скелетных мышц (миопатиях), тяжелой физической нагрузке (при марафонском беге); другим недостатком все также считалась низкая чувствительность. Методы второго поколения характеризовались более высокой специфичностью и чувствительностью, что выражалось в уменьшении перекрестной реактивности со скелетными тропонинами и возможностями более ранней диагностики ОИМ (в среднем через 6-12 ч после его развития). Измерение уров-

ней тропонина у пациентов с ОИМ превзошло использование всех других доступных биомаркеров (СК-МВ, лактатдегидрогеназу, аспартатамино-трансферазу), и в 2000г в совместном документе европейского и американского обществ кардиологов было рекомендовано использование тропонина Т для диагностики ОИМ [34]. Последующее совершенствование методов определения и разработка анализов “третьего” и “четвертого поколения” полностью устранило перекрестную реактивность, улучшило аналитические характеристики, в т.ч. предел обнаружения (минимальную определяемую концентрацию), время выполнения анализа сократилось примерно вдвое и преимущество в диагностике ОИМ окончательно перешло от СК-МВ к тропонинам [35]. Недостатком таких умеренно-чувствительных методов все также считалась небольшая чувствительность и пролонгированное среднее время, необходимое для точной лабораторной диагностики ОИМ (выявления диагностически значимых уровней сердечных тропонинов в крови), составляло 6-12 ч от момента развития клинической картины ОИМ. В 2007-2009гг появились первые сообщения о высокочувствительных методах анализа (“пятого поколения”), порог обнаружения которых составляет 1-10 нг/л, что примерно в десятки и сотни раз превышает умеренночувствительные методы и в тысячи раз превосходит прототипы 30-летней давности, а время выполнения анализа составляет 20-30 мин [36-38].

Иммуноанализы на тропонин I со времен первого прототипа, разработанного Cummins B, et al. (1987), претерпели аналогичную эволюцию. В 1992г моноклональные антитела были использованы для разработки иммуноферментного анализа: предел обнаружения составил 1900 нг/л, а время выполнения исследования составило 3,5 ч. В отличие от существующих тогда методов определения тропонина Т, этот анализ был высокоспецифичным для выявления повреждения миокарда. И ложноположительные результаты практически не наблюдались даже в условиях заболеваний скелетных мышц (миопатий), хронической почечной недостаточности и марафонского бега [39]. В течение последних 25 лет исследователи и производители разработали несколько видов анализа с различными комбинациями антител на многочисленных платформах. На данный момент на рынке представлено >30 тест-систем для определения тропонина I. Доступные методы варьируются от старых, менее чувствительных моделей, до современных, высоко- и ультрачувствительных. Из-за гетерогенности методов анализа cTnI количественные результаты, полученные для одного и того же пациента с помощью разных методов и на разных анализаторах (девайсах), не совпадают. Стандартизация методов определения cTnI, основанных на разных платфор-

мах, остается сложной задачей и является одной из главных проблем [40]. Так, в случае необходимости транспортировки пациента в другой стационар, который использует другую тест-систему, результаты определения тропонина нельзя сравнивать, что сопровождается дополнительными экономическими и временными расходами.

Среди наиболее популярных по данным Международной федерацией клинической химии (IFCC) коммерчески доступны тест-системы для выполнения высокочувствительных анализов следующих компаний: Abbot, Beckman Coulter, bioMerieux, LSI Medience, Roche, Ortho, Siemens, Singulex и др. [41]. Из них наборы для определения hs-TnT производит только фирма Roche, все остальные выпускают наборы для hs-TnI. Большим недостатком данных тестов является отсутствие стандартизации, что выражается в различных результатах у одного и того же пациента при определении разными коммерческими наборами, причем результаты могут различаться в 5-10 и более раз. Это связано, в первую очередь, с тем, что в разных наборах используются различные антитела, направленные к разным эпитопам (антигенным детерминантам) тропониновых молекул: при ОИМ в крови в большей степени циркулируют фрагменты тропонинов, которые обладают разной стабильностью. Так, использование антител, направленных против нестабильных эпитопов тропонинов, приведет к занижению результатов по сравнению с антителами против стабильных участков молекулы. В то же время некоторые эпитопы тропониновых молекул являются мишенями аутоантител и гетерофильных антител, последние при этом могут способствовать получению как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов. В этом направлении продолжаются дальнейшие исследования для уточнения механизмов влияния на результат анализа (интерференции), что будет способствовать улучшению качества и стандартизации анализов.

К настоящему моменту многие учреждения здравоохранения перешли на использование высокочувствительных тропониновых тест-систем. Anand A, et al. недавно провели глобальное исследование, чтобы оценить выполнение ключевых рекомендаций документа Универсального определения инфаркта миокарда (2018) по применению высокочувствительных тропонинов с помощью телефонного анкетирования по специально разработанной форме. Авторы опросили врачей 1902 медицинских центров в 23 странах на 5 континентах. Сердечный тропонин использовался в качестве основного диагностического маркера для диагностики ОИМ в 96% центрах, использование СКМВ продолжается в некоторых странах Латинской Америки (Аргентина, Мексика). Всего 41% центров применяли высокочувствительные анализы, при-

чем наблюдался широкий разброс от 7% в Северной Америке до 60% в Европе. В учреждениях, где использовали высокочувствительные методы анализа, чаще применялась серийная стратегия измерений с преобладанием ускоренных диагностических путей (0-3 ч), чаще принимался во внимание диагностический порог 99-го перцентиля, однако только в 18% центров использовались пороговые значения 99-процентиля, ассоциированные с гендерными особенностями [42].

Высокочувствительные методы определения тропонинов: аналитические характеристики, критерии, классификация

Основными аналитическими характеристиками качества тропониновых иммуноанализов являются: лимит (предел) бланка (LoB) — максимальная концентрация аналита, которую можно обнаружить в пробе, его не содержащей, предел обнаружения (LoD) — минимальная определяемая концентрация), предел количественного определения (функциональная чувствительность, LoQ), 99-перцентиль, гендерные особенности 99-перцентиля, процент измеримых значений у здоровых лиц, коэффициент вариации (CV) отношение 99 перцентиля/LoD [19, 43, 44].

У многих исследователей возникает вопрос: какой анализ следует считать высокочувствительным? Целевая группа IFCC комитета по клиническому применению биомаркеров сердца (TF-CB IFCC) предложила обозначать высокочувствительным тот метод, который удовлетворяет двум критериям [19]. Во-первых, % CV при установлении значений 99-го перцентиля не должен превышать 10%. Во-вторых, у >50% здоровых людей концентрация тропонинов должна быть выше LoD аналитического метода.

Тем не менее, очень многие методы, обозначаемые как высокочувствительные, не соответствуют данным критериям. Для hs-анализов все журналы, производители, лаборатории и учреждения должны использовать единицу измерения нг/л, чтобы избежать путаницы и десятичных точек, за которыми следуют ненужные нули, используемые в умеренночувствительных и некоторых современных высокочувствительных анализах [19].

Клинико-диагностическая ценность результатов определения hs-TnT и hs-TnI напрямую связана с аналитическими характеристиками используемых тропониновых диагностикумов (таблица 1). Для установления аналитических параметров тест-системы следует придерживаться рекомендаций экспертов IFCC. Так, например, для установления значений 99-го перцентиля в соответствии с гендерным признаком необходимо определить тропонин не менее чем у 300 женщин и 300 мужчин. В дальнейшем они могут корректироваться при получении новых данных и в идеале каждая лаборатория

Таблица 1

Современные аналитические характеристики качества методов иммуноанализа сердечных тропонинов

| Параметр | Описание, комментарий |
|--|--|
| LoB (Limit of Blank) — предел бланка (ложное срабатывание) | Самый низкий сигнал, генерируемый в жидкости с нулевой концентрацией тропонинов (холостой пробе) — чем меньше, тем лучше |
| LoD (Limit of Detection) — предел обнаружения (минимальная определяемая концентрация) | Значение, полученное в биологической жидкости с самой низкой концентрацией тропонина — чем меньше, тем лучше |
| LoQ (Limit of Quantitation) — предел количественного определения (функциональная чувствительность) | Минимальная концентрация, которую можно определить с погрешностью $\leq 10\%$ — чем меньше, тем лучше |
| Общее значение (без учета пола) 99-го перцентиля | Концентрация тропонина, выявляемая у 99% истинно здоровых лиц и только у 1% истинно здоровых обследуемых людей допускается ложноположительный результат чаще всего по какой-то неизвестной причине |
| Гендерные значения 99-го перцентиля | Концентрации тропонинов, выявляемые у 99% здоровых лиц с учетом пола. У мужчин 99-й перцентиль верхней границы нормы в $\sim 1,5$ -2 раза выше, чем у женщин в зависимости от используемого анализа |
| Пороговое значение (cut-off уровень) | Минимальная концентрация тропонина для постановки диагноза ОИМ. Данный показатель используется только в умеренночувствительных тест-системах, тогда как в ускоренных алгоритмах посредством высоко- и ультрачувствительных тест-систем в качестве референса используют уровень 99 перцентиля |
| Коэффициент вариации (% CV) | Случайный разброс измерений в одной и той же пробе. Чем он меньше, тем анализ точнее |
| Процент значений <99-го перцентиля у здоровых субъектов | Количество здоровых людей (в %), у которых определяется уровень тропонина в крови в пределах от LoD до 99-го перцентиля |
| Отношение 99 перцентиль/LoD | Чем больше, тем чувствительность теста выше |

должна установить собственный 99-го перцентиль, который в таком случае будет соответствовать не только тест-системе и используемому анализатору, но и особенностям данной популяции. Однако, учитывая сложность и затратность таких исследований, допустимо ориентироваться на параметры, предоставляемые производителями [19, 44]. Установление оптимальных значений 99-го перцентиля является очень важным моментом и сопряжено с рядом ключевых вопросов: как должны отбираться референтные группы? Какой статистический метод расчета следует применить? Определение того, что представляет собой здоровый человек, является предметом дискуссии [19]. Как следует подбирать пациентов по возрасту — молодых (<30 лет) или же тех, кто соответствует классическим пациентам с ОИМ (40-90 лет)? Какие следует использовать критерии для обозначения “здоровых” пациентов — при помощи простого опроса (анкетирования) или с помощью полного медицинского осмотра, включающего как физикальные, так и инструментально-лабораторные исследования (электрокардиография, эхокардиография, определение концентрации натрийуретических пептидов, уровня креатинина)? Последний вариант является идеальным, но дорогостоящим. Отбор контрольной группы по жестким критериям смещает 99 перцентиль к более низким значениям [45]. Кроме того, при расчете 99 перцентиля существует необходимость в унифицированном статистическом подходе. Предложенные способы расчета —

непараметрический метод (метод Harrell-Davis) и метод робастной (устойчивой) статистики дают разные значения 99 перцентиля. На этот счет продолжаются дискуссии [46]. Таким образом, вышеобозначенные условия оказывают сильное влияние на установление уровня 99 перцентиля, что является одним из объяснений его значительных вариаций между методами анализа от различных производителей.

В то же время некоторые новые быстрые алгоритмы диагностики (одно- и двухчасовые) не ориентируются на уровень 99 перцентиля в качестве эталонного диагностического порога, а используют более низкие значения отсечки для принятия решения о госпитализации/инвазивных вмешательствах или отправке пациента домой. Это связано с тем, что у многих пациентов, имеющих концентрацию hs-Tn в пределах от LoD (или LoQ) до 99 перцентиля, риск неблагоприятных исходов выше по сравнению с теми лицами, у которых значения минимальны или вообще не определяются (т.е. <LoD или LoQ). Успешность данных стратегий продемонстрирована в ряде исследований для быстрого исключения острого коронарного синдрома и выявления пациентов с повышенным риском 30-дневных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [47-51].

Очень важное значение в ранней диагностике ОИМ имеет LoD. Например, метод иммуноанализа первого-второго поколения имел LoD в пределах 100-500 нг/л, из-за чего ОИМ диагностировался

Таблица 2

Точность и чувствительность методов иммуноанализа сердечных тропонинов

| Коэффициент вариации (неточность анализа в %) | |
|---|---|
| CV ≤ 10 | Высокоточные (приемлемы для диагностики) |
| 10 ≤ CV ≤ 20 | Невысокоточные, но клинически приемлемы |
| CV ≥ 20 | Неприемлемы для использования |
| Процент (%) измеримых значений <99-го перцентиля у здоровых людей | |
| <50 | Умеренночувствительные — 1 уровень |
| 50-75 | Высокочувствительные 1-го поколения — 2 уровень |
| 75-95 | Высокочувствительные 2-го поколения — 3 уровень |
| >95 | Высокочувствительные 3-го поколения — 4 уровень |
| 99-100 | Высокочувствительные 4-го поколения — 5 уровень |
| Соотношение между 99-м перцентилем и LoD | |
| <1 | Клинически приемлемый (высокочувствительный) |
| ≥ 10 | Чрезвычайно высокочувствительный |
| ≥ 20 | Ультравысокочувствительный |

Таблица 3

Высокочувствительные методы определения сTnT и сTnI
по данным комитета по клиническому применению сердечных биомаркеров IFCC
(от декабря 2019г, предоставленные производителями) по [53] с изменениями

| Компания/платформа/метод | LoB (нг/л) | LoD (нг/л) | CV% | 99 перцентиль (общий и по гендерному при- знаку), нг/л | Процент, измеримых зна- чений в пределе от LoD до 99 перцентиля (общий и по гендерному признаку, % | Статистический метод, используе- мый для расчета 99 перцентиля |
|---|---------------|---------------|------|---|---|---|
| Abbott/Alinity i systems/Alinity i STAT High Sensitive Troponin-I; commercial OUS | 1,0 | 1,6 | 4,0% | Общий — 26,2 Ж — 15,6 М — 34,2 | Общий — 85% Ж — 78% М — 92% | Robust-статистика |
| Abbott/ARCHITECT i systems/ ARCHITECT STAT High Sensitive Troponin-I; commercial | 0,7-1,3 | 1,1 | 4,0% | Общий — 26,2 Ж — 15,6 М — 34,2 | Общий — 85% Ж — 78% М — 92 | Robust-статистика |
| Beckman Coulter/Access 2, DxI/Access hs-TnI; commercial — OUS | 0,0-1,7 | 1,0-2,3 | 3,7 | Общий — 17,5 Ж — 11,6 М — 19,8 | >50 | Непараметрический |
| Beckman Coulter/Access 2/ Access hs-TnI; commercial — U.S.: Serum | 0,0-0,8 | 1,0-2,0 | 6,0 | Общий — 18,2 Ж — 11,8 М — 19,7 | >50 | Непараметрический |
| LSI Medience (formerly Mitsubishi) PATHFAST hs-cTnI; commercial | - | 1 | <6 | Общий — 15,48 Ж — 16,91 М — 11,46 | Общий — 76 | Непараметрический |
| LSI Medience (former Mitsubishi) PATHFAST hs-cTnI/PATHFAST cTnI-II | 1,23 | 2,33 | 6,1 | Общий — 27,9 Ж — 20,3 М — 29,7 | Общий — 66,3 Ж — 52,8 М — 78,8 | Непараметрический |
| Ortho/VITROS/hs-TnI; commercial | 0,14-0,51 | 0,39-0,86 | <10 | Общий — 11,0 Ж — 9,0 М — 12,0 | >50 | Непараметрический |
| Roche/cobas e801/cTnT-hs 18-min and STAT; commercial | 2,5 | 3 | <10 | Общий — 14,0 Ж — 9,0 М — 16,0 | Общий — 57,4 | Не предоставлен производителем |
| Siemens ADVIA Centaur XP/XPT High Sensitivity TnI (TNIH), US & OUS; commercial | 0,50 | 1,6 | <4,9 | Общий — 46,5 Ж — 39,6 М — 58,0 | Общий — 72,0 Ж — 57,0 М — 86,0 | Непараметрический |
| Singulex Clarity cTnI; commercial | 0,02 | 0,08 | 2,39 | Общий — 8,67 Ж — 8,76 М — 9,23 | Общий — 99 Ж — 99 М — 100 | Непараметрический |

Примечание: М — мужчины, Ж — женщины.

слишком поздно (спустя 12-24 ч), в ряде случаев мелкоочаговые инфаркты пропускались, и ни у одного здорового пациента тропонин не определялся (0% измеряемых значений в референсной популя-

ции). На современном этапе развития высокочувствительных анализов LoD может составлять всего несколько нг/л и даже <1 нг/л, что в сотни раз чувствительнее и позволяет выявлять повреждение

миокарда практически на уровне единичных клеток; процент измеряемых величин тропонинов колеблется от 50% до 100% [19, 44]. Garcia-Osuna A, et al. недавно изучили аналитические характеристики нового метода, детектирующего тропонин I на уровне единичных молекул. Исследование показало, что данный метод обладает в ~10 раз большей чувствительностью по сравнению с используемым в настоящее время методом hs-TnI. LoD данного метода составил 0,08-0,12 нг/л, а доля здоровых людей с измеримыми концентрациями тропонинов достигла 99,5%. При этом здоровые субъекты были весьма жестко отобраны (на основании анамнеза, нормальных уровней натрийуретических пептидов и креатинина). Медиана hs-cTnI была значительно выше у мужчин по сравнению с женщинами и у пожилых по сравнению с молодыми, что свидетельствует о необходимости отражения возрастных особенностей в уровнях hs-cTnI. Данный сверхчувствительный иммуноанализ значительно превосходит остальные существующие высокочувствительные методы [52]. Такой чувствительности удалось добиться за счет использования 4 типов антител: 2 из них направлены к эпитопам, расположенным в центре тропонина и 2 на эпитопы, находящиеся на обоих концах молекулы, что обеспечивает больший захват молекулы тропонина I и ее фрагментов по сравнению с тест-системами, основанными на использовании 2-3 типов антител.

Важным параметром, определяющим точность иммуноанализа, является % CV. Метод считается высокоточным и соответствующим требованиям IFCC, если при серийном определении уровня тропонина в одном и том же образце, средний разброс полученных результатов не превышает 10% ($CV \leq 10\%$). Однако, в связи с низкой коммерческой доступностью высокоточных тестов, во многих лабораториях до сих пор широко используются тропониновые тесты с $10\% \leq CV \leq 20\%$. Применение данных тест-систем может приводить к получению ложнопозитивных и ложноотрицательных резуль-

татов. Тесты с $CV > 20\%$ неприемлемы для использования в клинической практике и должны быть исключены (таблица 2). Существенное улучшение аналитических параметров высокочувствительных тестов позволило ввести дополнительную, так называемую “функциональную”, классификацию методов, основанную на соотношении 99-го перцентиль и LoD. Чем больше отношение 99-й перцентиль/LoD, тем выше вероятность идентификации субъектов с измеримыми значениями.

Некоторые существующие современные высокочувствительные тест-системы, доступные для клинического применения, а также их аналитические параметры суммированы в таблице 3 (по данным IFCC, декабрь 2019г) [53].

Заключение

Высокочувствительные методы определения тропонинов существенно изменили представление о биологии сердечных тропонинов, позволили улучшить диагностику ОИМ. Однако ряд проблем, связанных с анализом, может повлиять на эффективность определения сердечных тропонинов в рутинной клинической практике. Для надежного и оптимального использования высокочувствительных методов определения тропонинов в клинической практике важно учитывать их основные аналитические характеристики: 99 перцентиль, гендерные особенности 99 перцентиль, предел обнаружения (минимальная определяемая концентрация), коэффициент вариации, отношение 99 перцентиль/предел обнаружения, предел бланка. Поскольку все больше производителей выпускают тест-системы, основанные на высокочувствительных методах определения, возникает необходимость в проведении независимых аналитических и клинических оценок данных методов.

Отношения и деятельность: все авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Литература/References

1. Katruha IA. Troponin complex of the human heart. Structure and functions. *Advances in biological chemistry*. 2013;53:149-94. (In Russ.) Катруха И.А. Тропониновый комплекс сердца человека. Структура и функции. *Uspekhi biologicheskoy khimii*. 2013;53:149-94.
2. Pasquale F, Syrris P, Kaski JP, et al. Long-term outcomes in hypertrophic cardiomyopathy caused by mutations in the cardiac troponin T gene. *Circ Cardiovasc Genet*. 2012;5(1):10-7. doi:10.1161/CIRCGENETICS.111.959973.
3. Duplyakov DV, Chaulin AM. Mutations of heart troponins, associated with cardiomyopathies. *Kardiologiya: novosti, mneniya, obucheniye* (Cardiology: News, Opinions, Training). 2019;7(3):8-17. (In Russ.) Дупляков Д.В., Чаулин А.М. Мутации сердечных тропонинов, ассоциированные с кардиомиопатиями. *Кардиология: новости, мнения, обучение*. 2019;7(3):8-17. doi:10.24411/2309-1908-2019-13001.
4. Messner B, Baum H, Fischer P, et al. Expression of messenger RNA of the cardiac isoforms of troponin T and I in myopathic skeletal muscle. *Am J Clin Pathol*. 2000;114(4):544-9. doi:10.1309/8KCL-UQRF-6EEL-36XK.
5. Ricchiutti V, Apple FS. RNA expression of cardiac troponin T isoforms in diseased human skeletal muscle. *Clin Chem*. 1999;45(12):2129-35. doi:10.1093/clinchem/45.12.2129.
6. Wens SCA, Schaaf GJ, Michels M, et al. Elevated plasma cardiac troponin T levels caused by skeletal muscle damage in Pompe disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2016;9(1):6-13. doi:10.1161/CIRCGENETICS.115.001322.
7. Schmid J, Liesinger L, Birner-Gruenberger R, et al. Elevated cardiac troponin T in patients with skeletal myopathies. *J Am Coll Cardiol*. 2018;71(14):1540-9. doi:10.1016/j.jacc.2018.01.070.

8. Rusakov DY, Vologdina NN, Tulayeva ON. The development of striated cardiac muscle tissue in the walls of the caval and pulmonary veins. *Journal of Anatomy and Histopathology*. 2015;4(3):105-5. (In Russ.) Русаков Д. Ю., Вологодина Н. Н., Тулаева О. Н. Развитие исчерченной сердечной мышечной ткани в стенках полых и легочных вен. *Журнал анатомии и гистопатологии*. 2015;4(3):105-5. doi:10.18499/2225-7357-2015-4-3-105-105.
9. Dhoot GK, Gell PG, Perry SV. The localization of the different forms of troponin I in skeletal and cardiac muscle cells. *Exp Cell Res*. 1978;117(2):357-70. doi:10.1016/0014-4827(78)90149-0.
10. Dhoot GK, Perry SV. Distribution of polymorphic forms of troponin components and tropomyosin in skeletal muscle. *Nature*. 1979;278(5706):714-8. doi:10.1038/278714a0.
11. Filatov VL, Katruha AG, Bulargina TV, et al. Troponin: structure, properties and mechanism of functioning. *Biochemistry*. 1999;64(9):1155-74. (In Russ.) Филатов В. Л., Катруха А. Г., Буларгина Т. В. и др. Тропонин: строение, свойства и механизм функционирования. *Биохимия*. 1999;64(9):1155-74.
12. Velkov VV. The new international criteria of cardiac infarction and highly sensitive troponins: new possibilities and new problems. *Klin Lab Diagn*. 2014;59(1):43-53. (In Russ.) Вельков В. В. Новые международные критерии инфаркта миокарда и высокочувствительные тропонины: новые возможности и новые проблемы. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2014;59(1):43-53.
13. Ni L, Wehrens XHT. Cardiac troponin I—more than a biomarker for myocardial ischemia? *Ann Transl Med*. 2018;6(1):S17. doi:10.21037/atm.2018.09.07.
14. Chaulin AM, Abashina OE, Duplyakov DV. Pathophysiological mechanisms of cardiotoxicity in chemotherapeutic agents. *Russian Open Medical Journal* 2020;9:e0305. doi:10.15275/rusomj.2020.0305.
15. Wilhelm J, Hettwer S, Schuermann M, et al. Elevated troponin in septic patients in the emergency department: frequency, causes, and prognostic implications. *Clin Res Cardiol*. 2014;103(7):561-7. doi:10.1007/s00392-014-0684-4.
16. Dubin RF, Li Y, He J, et al. Predictors of high sensitivity cardiac troponin T in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study in the chronic renal insufficiency cohort (CRIC). *BMC Nephrol*. 2013;14:229. doi:10.1186/1471-2369-14-229.
17. Zimrutdal AO, Bakinen O, Ucan H, et al. Relationship between uremic myopathy and false-positive cardiac troponin T test. *Nephron*. 2000;86:522-3. doi:10.1159/000045852.
18. Klinkenberg LJJ, Wildi K, van der Linden N, et al. Diurnal rhythm of cardiac troponin: consequences for the diagnosis of acute myocardial infarction. *Clin Chem*. 2016;62(12):1602-11. doi:10.1373/clinchem.2016.257485.
19. Apple FS, Jaffe AS, Collinson P, et al. IFCC educational materials on selected analytical and clinical applications of high sensitivity cardiac troponin assays. *Clin Biochem*. 2015;48(4-5):201-3. doi:10.1016/j.clinbiochem.2014.08.021.
20. Shah A, Griffiths M, Lee KK, et al. High sensitivity cardiac troponin and the under-diagnosis of myocardial infarction in women. *BMJ*. 2015;350:g7873. doi:10.1136/bmj.g7873.
21. Gore MO, Seliger SL, deFilippi CR, et al. Age- and sex-dependent upper reference limits for the high-sensitivity cardiac troponin T assay. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:1441-8. doi:10.1016/j.jacc.2013.12.032.
22. Trupp RJ, Albert G, Ziegler A. Sex-specific 99th percentiles derived from the AACC Universal Sample Bank for the Roche Gen 5 cTnT assay: Comorbidities and statistical methods influence derivation of reference limits. *Clinical Biochemistry*. 2018;52:173. doi:10.1016/j.clinbiochem.2017.11.003.
23. Venge P, Lindahl B. Cardiac troponin assay classification by both clinical and analytical performance characteristics: a study on outcome prediction. *Clin Chem*. 2013;59:976-81. doi:10.1373/clinchem.2012.194928.
24. Aakre KM, Roraas T, Petersen PH, et al. Weekly and 90-minute biological variations in cardiac troponin T and cardiac troponin I in hemodialysis patients and healthy controls. *Clin Chem*. 2014;60(6):838-47. doi:10.1373/clinchem.2013.216978.
25. van der Linden N, Cornelis T, Klinkenberg LJJ, et al. Strong diurnal rhythm of troponin T, but not troponin I, in a patient with renal dysfunction. *International J Cardiology*. 2016;221:287-8. doi:10.1016/j.ijcard.2016.06.268.
26. Zenina OYu, Makarova II, Ignatova YuP, et al. Chronophysiology and Chronopathology of Cardiovascular System (Literature Review). *Ekologiya cheloveka (Human Ecology)*. 2016;1:25-33. (In Russ.) Зенина О. Ю., Макарова И. И., Игнатова Ю. П., и др. Хронофизиология и хронопатология сердечно-сосудистой системы (обзор литературы). *Экология человека*. 2017;1:25-33.
27. Pervan P, Svaguša T, Prkačin I, et al. Urine high sensitive Troponin I measuring in patients with hypertension. *Signa Vitae — A Journal In Intensive Care And Emergency Medicine*. 2017;13(Suppl3):62-4. doi:10.22514/SV133.06201713.
28. Chaulin AM, Karslyan LS, Grigoriyeva EV, et al. Clinical and Diagnostic Value of Cardiac Markers in Human Biological Fluids. *Kardiologiya*. 2019;59(11):66-75. (In Russ.) Чаулин А. М., Карслян Л. С., Григорьева Е. В. и др. Клинико-диагностическая ценность кардиомаркеров в биологических жидкостях человека. *Кардиология*. 2019;59(11):66-75. doi:10.18087/cardio.2019.11.n414.
29. Mirzaei-Dizgah I, Riahi E. Salivary high-sensitivity cardiac troponin T levels in patients with acute myocardial infarction. *Oral Diseases*. 2013;19(2):180-4. doi:10.1111/j.1601-0825.2012.01968.x.
30. Paltsev MA, Sarayev GB, Bunin VA, et al. Saliva as a biological object for non-invasive molecular diagnosis of cardiovascular diseases. *Molecular medicine (Molekulyarnaya Meditsina)*. 2018;16(5):3-8. (In Russ.) Пальцев М. А., Сараев Г. Б., Бунин В. А. и др. Слюна как биологический объект для неинвазивной молекулярной диагностики сердечно-сосудистых заболеваний. *Молекулярная медицина*. 2018;16(5):3-8. doi:10.29296/24999490-2018-05-01.
31. Chaulin AM, Duplyakova PD, Bikbaeva GR, et al. Concentration of high-sensitivity cardiac troponin I in the oral fluid in patients with acute myocardial infarction: a pilot study. *Russian Journal of Cardiology*. 2020;25(12):3814. (In Russ.) Чаулин А. М., Дуплякова П. Д., Бикбаева Г. Р. и др. Концентрация высокочувствительного тропонина I в ротовой жидкости у пациентов с острым инфарктом миокарда: пилотное исследование. *Российский кардиологический журнал*. 2020;25(12):3814. doi:10.15829/1560-4071-2020-3814.
32. 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. doi:10.1016/0002-8703(87)90645-4.
33. Katus HA, Looser S, Hallermayer K, et al. Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin Chem*. 1992;38(3):386-93.
34. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. 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.

35. Hermesen D, Apple F, Garcia-Beltrán L, et al. Results from a multicenter evaluation of the 4th generation Elecsys Troponin T assay. *Clin Lab*. 2007;53(1-2):1-9.
36. Kontsevaya AV, Myrzamatova AO, Drapkina OM. Biomarkers in predicting cardiovascular risk: new prospects of troponin I. *Cardiovascular Therapy and Prevention*. 2020;19(3):2584. (In Russ.) Концевая А. В., Мырзаматова А. О., Драпкина О. М. Биомаркеры в прогнозировании сердечно-сосудистого риска: новые возможности тропонина I. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2020;19(3):2584. doi:10.15829/1728-8800-2020-2584.
37. Mingels A, Jacobs L, Michielsen E, et al. Reference population and marathon runner sera assessed by highly sensitive cardiac troponin T and commercial cardiac troponin T and I assays. *Clin Chem*. 2009;55(1):101-8. doi:10.1373/clinchem.2008.106427.
38. Keller T, Zeller T, Ojeda F, et al. Serial changes in highly sensitive troponin I assay and early diagnosis of myocardial infarction. *JAMA*. 2011;306(24):2684-93. doi:10.1001/jama.2011.1896.
39. Adams JE 3rd, Bodor GS, Dávila-Román VG, et al. Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation*. 1993;88(1):101-6. doi:10.1161/01.cir.88.1.101.
40. Apple FS. Counterpoint: Standardization of cardiac troponin I assays will not occur in my lifetime. *Clin Chem*. 2012;58(1):169-71. doi:10.1373/clinchem.2011.166165.
41. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine: Task Force on Clinical Applications of Cardiac Biomarkers. Analytical Characteristics of Commercial Cardiac Troponin I and T Assays Declared by the Manufacturer. International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. URL: <http://www.ifcc.org/media/477275/ifccenewsmay2018.pdf>.
42. Anand A, Shah ASV, Beshiri A, et al. Global Adoption of High-Sensitivity Cardiac Troponins and the Universal Definition of Myocardial Infarction. *Clin Chem*. 2019;65(3):484-9. doi:10.1373/clinchem.2018.298059.
43. Armbruster DA, Pry T. Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *Clin Biochem Rev*. 2008;29(Suppl 1):S49-52.
44. Apple FS. A new season for cardiac troponin assays: it's time to keep a scorecard. *Clin Chem*. 2009;55:1303-6. doi:10.1373/clinchem.2009.128363.
45. Collinson PO, Heung YM, Gaze D, et al. Influence of population selection on the 99th percentile reference value for cardiac troponin assays. *Clin Chem*. 2012;58(1):219-25. doi:10.1373/clinchem.2011.171082.
46. Eggers KM, Apple FS, Lind L, et al. The applied statistical approach highly influences the 99th percentile of cardiac troponin I. *Clin Biochem*. 2016;49(15):1109-12. doi:10.1016/j.clinbiochem.2016.08.012.
47. Sörensen NA, Neumann JT, Ojeda F, et al. Challenging the 99th percentile: A lower troponin cutoff leads to low mortality of chest pain patients. *Int J Cardiol*. 2017;232:289-93. doi:10.1016/j.ijcard.2016.12.167.
48. Lippi G, Bonfanti L, Dipalo M, et al. Clinical, organizational and economic analysis of high-sensitivity cardiac troponin testing in the emergency department. *Ann Res Hosp*. 2017;1:44. doi:10.21037/arh.2017.09.02.
49. Pickering JW, Than MP, Cullen L, et al. Rapid Rule-out of Acute Myocardial Infarction With a Single High-Sensitivity Cardiac Troponin T Measurement Below the Limit of Detection: A Collaborative Meta-analysis. *Ann Intern Med*. 2017;166(10):715-24. doi:10.7326/M16-2562.
50. Ferencik M, Mayrhofer T, Lu MT, et al. High-sensitivity cardiac troponin I as a gatekeeper for coronary computed tomography angiography and stress testing in patients with acute chest pain. *Clin Chem*. 2017;63:1724-33. doi:10.1373/clinchem.2017.275552.
51. Jaeger C, Wildi K, Twerenbold R, et al. One-hour rule-in and rule-out of acute myocardial infarction using high-sensitivity cardiac troponin I. *Am Heart J*. 2016;171(1):92-102.e1025. doi:10.1016/j.ahj.2015.07.022.
52. Garcia-Osuna A, Gaze D, Grau-Agramunt M, et al. Ultrasensitive quantification of cardiac troponin I by a Single Molecule Counting method: analytical validation and biological features. *Clin Chim Acta*. 2018;486:224-31. doi:10.1016/j.cca.2018.08.015.
53. URL: <https://www.ifcc.org/media/478231/high-sensitivity-cardiac-troponin-i-and-t-assay-analytical-characteristics-designated-by-manufacturer-v122019.pdf>.