

Invio il documento sull'attività svolta e sui progetti futuri da parte del Gruppo di Studio dei Biomarcatori Cardiaci (anni 2019-2023).

Come potrete verificare Voi stessi, i Coordinatori del GdS hanno voluto con questo documento non solo fornire una illustrazione dettagliata dell'attività svolta dal Gruppo di Studio durante questi difficili anni passati durante la pandemia di COVID-19, ma anche quello di discutere alcune tematiche relative all'utilizzo dei biomarcatori cardiaci e alla loro interpretazione fisiopatologica e clinica, che ancora necessitano, sia di un ulteriore approfondimento teorico, che di studi sperimentali e clinici ad hoc.

Questo ha richiesto uno sforzo significativo nella preparazione del documento, non solo da parte dei Coordinatori del GdS, ma anche di alcuni colleghi che hanno dato una mano per sviluppare alcuni temi specifici, Tutto questo lavoro è stato svolto con la speranza che il documento sia di aiuto ai colleghi interessati a queste tematiche fisiopatologiche e cliniche, e anche con l'auspicio che questa pubblicazione possa stimolare la partecipazione attiva di molti colleghi agli studi sperimentali e clinici che il GdS vorrebbe eseguire nei prossimi anni.

Date le premesse e gli scopi, ne è scaturito un documento assai dettagliato che discute tutte le tematiche di interesse fisiopatologie e cliniche relative all'utilizzo dei biomarcatori cardio-specifici nella pratica clinica e di laboratorio.

A questo proposito, mi sono consigliato con Maria Stella Graziani, in qualità di Editor di Biochimica Clinica, per chiederli un parere se non fosse il caso di considerare da parte del Direttivo la pubblicazione di questi importanti documenti su Biochimica Clinica, che rischiano di essere letti solo da pochi colleghi del Direttivo e poi inseriti e quindi dimenticati in qualche fascicolo amministrativo. Questo sarebbe un vero spreco di energie e di possibilità future, in quanto questi documenti non solo richiedono un impegno importante da parte dei Coordinatori nella loro preparazione, ma anche possono fornire una rassegna completa sui temi di attualità nei campi di interesse dei GdS, perché sono corredati da molte citazioni bibliografiche (nel nostro documento circa 150).

Rinnovo a tutti i colleghi i miei migliori auguri per il nuovo anno sperando che possa portare una crescita dell'attività della nostra Società e, in particolare, di quella dei GdS.

Buon lavoro  
Aldo Clerico

## **Programma Scientifico del Gruppo di Studio Inter-Societario dei Biomarcatori Cardiovascolari (triennio 2021-2023)**

Coordinatori del Gruppo di Studio: Aldo Clerico, Martina Zaninotto

*Questo documento non ha solo lo scopo di fornire una documentazione dettagliata dell'attività svolta dal Gruppo di Studio durante questi difficili anni passati durante la pandemia di COVID-19, che hanno messo a dura prova tutti i professionisti dei laboratori clinici italiani, ma anche quello di illustrare alcune tematiche relative all'utilizzo dei biomarcatori cardiaci e alla loro interpretazione fisiopatologica e clinica, che ancora necessitano sia di un ulteriore approfondimento teorico che di studi sperimentali e clinici ad hoc.*

### ***Introduzione: danno cardiaco e valutazione del rischio cardiovascolare***

#### *La medicina di precisione*

L'epidemiologia clinica ha da sempre utilizzato la statistica di popolazione per valutare l'accuratezza diagnostica e prognostica dei test di laboratorio, funzionali o di imaging cardiaco, come anche per la valutazione dei costi/benefici dell'impiego di questi test come delle nuove terapie farmacologiche o chirurgiche in ambito cardiovascolare (**1-3**). Tale approccio statistico funziona molto bene per ottenere informazioni utili per la programmazione di politica sanitaria o per la valutazione della accuratezza diagnostica e prognostica nella popolazione generale o in gruppi

selezionati di pazienti, ma richiede una attenta interpretazione dei risultati, quando tali analisi sono applicate al singolo individuo/paziente (**1-3**).

La diagnosi di danno cardiaco è da considerarsi fondamentale in ogni individuo/paziente in cui si sospetti una malattia cardiaca. Il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction* stabilisce che è sufficiente un solo valore misurato superiore al valore decisionale con il test di laboratorio della troponina cardiaca I (hs-cTnI) o T (hs-cTnT), misurata con metodi ad alta sensibilità, per identificare la presenza di un danno cardiaco (**4**). Il valore decisionale viene stabilito come il 99° percentile dei valori del biomarcatore determinati sulla popolazione generale di riferimento. Da un punto di vista clinico, la diagnosi biochimica di danno cardiaco presenta la limitazione che la variabilità inter-individuale della hs-cTn nella popolazione di riferimento è molto elevata (circa del 50-60%), perché dipende dalla massa cardiaca, che a sua volta dipende dalla massa corporea (**5,6**). Al contrario, la variabilità intra-individuale della misura di hs-cTn è molto minore (mediamente circa 8%), per cui è preferibile valutare variazioni seriate ottenute nello stesso soggetto/paziente, piuttosto che confrontare la concentrazione di hs-cTn ottenuta in un singolo soggetto/paziente contro un valore decisionale calcolato nella popolazione generale (**5**). Inoltre, la diagnosi clinica di danno cardiaco deve tenere conto di almeno 4 differenti variabili: la troponina cardiaca misurata (cTnI o cTnT), il metodo di misura (per i differenti metodi per la determinazione della cTnI), il sesso e l'età. È importante sottolineare che al momento non si conoscono i valori di riferimento accurati di cTnI e cTnT nella popolazione in età pediatrica, perché misurati in pochi individui per ogni fascia di età (neonati, infanti, adolescenti). Tuttavia, gli studi concordano che nei neonati, infanti ed adolescenti in rapido accrescimento i valori delle cTnI e cTnT potrebbero essere più elevati rispetto all'età adulta (**6,7**).

Tuttavia, l'età, il sesso e il metodo di misura potrebbero non essere i soli fattori da prendere in considerazione per una valutazione "più precisa" della presenza di un danno cardiaco, come raccomandato dalle linee guida. Le due troponine cardiache hanno funzione biologica, peso molecolari, catene amino-acidiche e cinetiche in vivo differenti (**5,8**). Alcuni studi hanno anche evidenziato che le due troponine presentano comportamenti differenti in alcune patologie specifiche, come le malattie congenite neuro-muscolari, le malattie scheletriche e del tessuto connettivo autoimmuni croniche e le patologie in cui sono presenti auto-anticorpi contro le troponine (**8,9-15**). Quindi, nei pazienti che presentano queste patologie una diagnosi "più precisa" di danno miocardico richiede la misura di entrambe le troponine e in alcuni casi anche con metodi differenti per la misura della hs-cTnI.

È importante sottolineare che gli studi hanno evidenziato che, anche piccolissime variazioni osservate in un periodo di alcuni mesi, nella concentrazione plasmatica di hs-cTnI o hs-cTnT ( $\geq 5$  ng/L) possono essere clinicamente rilevanti nella valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione generale (**16,17**). Tuttavia, tali variazioni non sono rilevabili né con l'EGC, né con le più sofisticate tecniche di imaging cardiaco (**6,18,19**). Inoltre la misura dei biomarcatori cardio-specifici risulta meno costosa, più rapida (risultato disponibile in pochi minuti), non presenta rischi o possibili effetti collaterali, e, inoltre, può essere effettuata in prossimità del paziente (con metodi POCT, Point-of-Care Testing), rispetto alle tecniche di imaging cardiaco (**6,18,19**).

#### *Approccio multi-marker*

È importante sottolineare che molti studi hanno evidenziato come l'utilizzo della misura combinata delle hs-cTn e dei Peptidi Natriuretici Cardiaci (PNC) nei pazienti con sospetto di malattia cardiaca non risulti mai ridondante, ma anzi renda significativamente "più precise" sia la diagnosi che la stratificazione del rischio (**20**). Infatti, elevati valori di hs-cTn indicano che vi è la presenza di un danno del tessuto miocardico, mentre elevati valori di PNC evidenziano una alterazione della funzionalità cardiaca (**20**). I PNC e le hs-cTn sono gli unici biomarcatori cardio-specifici attualmente disponibili nei laboratori clinici. Poiché i valori decisionali di questi biomarcatori cardio-specifici possono variare a seconda dell'età, del sesso, delle co-morbidità presenti nella storia clinica ed anche

dei metodi utilizzati per la misura, le linee guida raccomandano sempre una stretta collaborazione tra i professionisti della medicina di laboratorio e i clinici per favorire l'interpretazione clinica dei risultati (**21,22**).

E' teoricamente concepibile che l'utilizzo di altri biomarcatori (oltre ai PNC e hs-cTn) possa rendere "più precisa" sia la diagnosi nei pazienti con sospetto di malattia cardiaca che la stratificazione del rischio, sia nella popolazione generale che nei pazienti con malattie cardiovascolari. Attualmente, sono state valutate alcune centinaia di possibili biomarcatori circolanti (tra cui: proteine infiammatorie di fase acuta, ormoni peptidici, citochine, lipochine e prostaglandine pro-infiammatorie e/o pro-coagulanti, fattori di crescita, proteasi tissutali e plasmatiche, neurotrasmettitori e anche prodotti del metabolismo intermedio o correlati al microbiota intestinale) (**16,17**). Tuttavia, pochissimi hanno finora dimostrato un significativo incremento nella accuratezza prognostica nella popolazione generale rispetto alla misura combinata dei biomarcatori cardio-specifici, quando questi marcatori sono stati valutati sia con indagini statistiche multivariate che con test di calibrazione e ri-classificazione, come raccomandato dalle linee guida (**16,17**). Questi dati risultano molto importanti quando si valuta l'incremento del biomarcatore con un algoritmo raccomandato per la diagnosi differenziale delle Sindromi Coronariche Acute (SCA) in pazienti ammessi al pronto soccorso (**23**), oppure l'incremento nel tempo, in un soggetto a rischio di evoluzione rapida verso lo scompenso cardiaco (**16,17**), oppure il danno arrecato da una dose di farmaco chemioterapico (**24**) o dall'assunzione di sostanze stupefacenti (come la cocaina) (**25**).

#### *Importanza dell'utilizzo di database*

I clinici per la diagnosi, il trattamento e la stratificazione del rischio nei pazienti con malattie cardiovascolari hanno spesso a disposizione una grande mole di dati che riguardano la storia clinica del paziente e i risultati di vari test di laboratorio e funzionali. Questi dati devono essere confrontati tra loro ed interpretati alla luce dell'esperienza professionale, ma tenendo anche conto delle evidenze sperimentali e delle raccomandazioni delle linee guida (**4,21-23**). Come discusso nei paragrafi precedenti, gli articoli scientifici e le raccomandazioni delle linee guida suggeriscono generalmente dei livelli decisionali per i metodi di laboratorio, le prove di funzionalità cardio-polmonare e le tecniche di imaging cardiaco (**4,21-23**). I risultati di questi differenti test sono generalmente riassunti ed inglobati in un dato numerico, come i valori di riferimento o i livelli clinici decisionali (**1-4,21-23**). Tali valori sono comunemente calcolati nella popolazione di riferimento apparentemente sana e possono essere affiancati per alcune condizioni cliniche da altri valori decisionali (cut-off) in relazione a differenti forme della malattia, a specifici sotto-gruppi di pazienti o livelli di rischio. Tali valori (in genere il 97.5° o 99° percentile della distribuzione della concentrazione del biomarcatore) sono calcolati in larghe popolazioni di riferimento di soggetti apparentemente sani o di gruppi di pazienti (centinaia od anche migliaia di individui) (**21,25,26**). I valori stessi, come anche l'ampiezza dell'intervallo di confidenza, dipendono dalle caratteristiche della popolazione di riferimento, dalla numerosità degli individui testati, dall'analisi statistica utilizzata e dalla prestazione diagnostica e prognostica del test di laboratorio o della tecnica utilizzata (**26,27**).

Considerando più specificamente le malattie cardiovascolari, i valori decisionali dei test di laboratorio e funzionali variano spesso a seconda dell'età, del sesso, dell'etnia, della presenza di comorbidità e di fattori di rischio (come scarsa attività fisica, fumo, abuso di alcool o droghe). Per aiutare il clinico nel processo diagnostico o prognostico sono stati validati degli algoritmi che interpolano diversi dati ottenuti dall'anamnesi, dall'esame clinico, dai test di laboratorio e funzionali (**1-3**). Questi algoritmi si basano su migliaia di dati raccolti da vari studi multicentrici che hanno arruolato larghe popolazioni di soggetti apparentemente sani o pazienti di entrambi i sessi, divisi per differenti classi di età e etnie (**4,21-23,28,29**). Il risultato finale di queste complesse analisi sono degli *score* ottenuti con sofisticati approcci statistici (analisi multivariate, analisi discriminante, approccio bayesiano, reti neurali, ecc.) che hanno utilizzato estese banche di dati, che includono sia studi epidemiologici che clinici (**30,31**). Lo scopo di questa complessa analisi statistica è confrontare alcuni

indici (clinici, di laboratorio, funzionali) relativi ad un singolo individuo/paziente con cui stimare la probabilità di presenza di malattia o stratificare il suo personale rischio cardiovascolare (**1-3,28,29**). Questo approccio è quindi un'analisi statistica multi-markers che cerca di estrarre solo le informazioni più rilevanti relative ad uno specifico individuo/paziente per cercare di ridurre la variabilità inter-individuale in modo da calcolare uno o più indici (*score*) che indichi(no) in modo più accurato la probabilità di presenza/assenza di malattia, calcolando sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e negativo e *likelihood ratio*, o la prognosi, stratificandola in più classi di rischio (in genere tre: rischio basso, medio o alto) (**1-3,30,31**).

## **STUDI E DOCUMENTI PUBBLICATI (2020-2022)**

Diverse linee di ricerca sono state prese in considerazione e sviluppate in questi ultimi anni (2109-2022) da parte del Gruppo di Studio (GdS) sotto l'egida di differenti Società Scientifiche Italiane e in collaborazione con le principali aziende produttrici di test di laboratorio (**5,7,8,16,20,24-27,32-58**).

Sebbene queste linee di ricerca presentino scopi ed obiettivi differenti, tutti gli studi fisiopatologici e clinici sono stati caratterizzati da un disegno sperimentale simile, che ha utilizzato un unico laboratorio di riferimento in cui raccogliere tutti i campioni dello studio ed eseguire le misure con più biomarcatori cardiaci. Questo disegno sperimentale comune ha consentito di raccogliere tutti i dati in un unico *database* utilizzando una rete tra laboratori italiani che era già stata sperimentata negli anni precedenti, e che ha quindi consentito di produrre un gran numero di risultati sperimentali e relative pubblicazioni con la collaborazione di molti laboratori clinici, distribuiti in tutta la penisola italiana (**5,7,8,16,20,24-27,32-58**).

Purtroppo nel corso degli anni in cui in Italia si è presentata e poi sviluppata l'epidemia da COVID-19 l'attività di ricerca del Gruppo di Studio ha subito un rallentamento dovuto all'impegno progressivo profuso da tutti i colleghi per fronteggiare l'episodio pandemico nelle rispettive Istituzioni Sanitarie Italiane di loro competenza. Il Gruppo di Studio ha comunque cercato di continuare il suo supporto scientifico ai colleghi anche negli anni della pandemia pubblicando numerose rassegne e documenti inter-societari sia in lingua italiana che inglese sulle riviste collegate alle Società di Medicina di Laboratorio Italiane e Internazionali (**5,7,8,16,20,24-27,32-58**).

Nei prossimi paragrafi sono descritte più in particolare le attuali linee di ricerca riportando i risultati più importanti ottenuti negli studi effettuati con il contributo del GdS e pubblicati in riviste internazionali.

### ***1. Distribuzione dei livelli circolanti di hs-cTnI e hs-cTnT in età pediatrica, durante l'età dello sviluppo e l'esercizio fisico.***

I nostri studi hanno chiaramente dimostrato che in età pediatrica i valori di hs-cTnI e hs-cTnT sono più elevati di quelli riscontrati negli adulti (età  $\geq 18$  anni), soprattutto nei primi giorni e mesi di vita (**7,54,55,57,58**). Tuttavia, mancano ancora dati accurati che indichino i valori decisionali differenziati per i biomarcatori cardio-specifici (peptidi natriuretici e troponine cardiache) per l'età neonatale, prima infanzia e adolescenza (**57,58**). In accordo con il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction*, concentrazioni più elevate del limite superiore di riferimento (cioè del 99° percentile URL) indicano la presenza di un danno cardiaco anche in pazienti in età pediatrica (**4**). Tuttavia, la mancanza di validi livelli decisionali per i metodi hs-cTnI e hs-cTnT in età pediatrica, rischia di rallentare e rendere più difficile lo sviluppo della cardiologia pediatrica rispetto a quello degli adulti (**57,58**).

Poiché i livelli circolanti del biomarcatore rappresentano un valido indice del rinnovamento fisiologico del miocardio (**6,18,19**), la misura dei livelli circolanti di hs-cTnI e hs-cTnT potrebbe essere un valido strumento per indagare lo sviluppo normale (o patologico) del cuore durante la vita neonatale e nell'infanzia, fino all'adolescenza, considerando anche l'influenza degli ormoni sessuali sulla massa miocardica. Infatti, nell'età adulta i livelli circolanti negli uomini rispetto alle donne di pari età sono mediamente circa il doppio, almeno fino all'età di 55 anni (**6,16,26,27,34-45**).

Recenti evidenze sperimentali suggeriscono anche che la misura di hs-cTnI e hs-cTnT potrebbe rappresentare un valido test per valutare l'ipertrofia ventricolare negli atleti, dove assai di frequente il medico sportivo e il cardiologo si trovano in difficoltà nel valutare se si è di fronte ad un processo di rimodellamento ventricolare fisiologico o patologico (52-54,59-60).

Simili presupposti fisiopatologici dovrebbero essere anche considerati per valutare il decorso post-operatorio nei giovani pazienti sottoposti ad intervento cardiocirurgico per malformazioni congenite cardiache o ricoverati in unità di terapia intensiva pediatrica per sepsi o malattie infiammatorie dell'apparato polmonare (51,55,57,58).

## **2. Armonizzazione dei metodi hs-cTnI.**

Come riportato in molti documenti di esperti internazionali e nelle linee guida il più importante fattore confondente per i clinici relativo alla misura di hs-cTnI e cTnT è senza dubbio la presenza di significative differenze tra metodi nei valori misurati del biomarcatore e quindi anche tra i livelli dei valori di riferimento, per la diagnosi di danno miocardico e IMA (4,21-23,32). Risulta quindi importante cercare di armonizzare i valori dei metodi di misura della hs-cTnI (32,34,35,36,38,46). I risultati di uno studio preliminare, effettuati utilizzando sia campioni di soggetti sani e pazienti con malattie cardiovascolari che materiali di controllo di qualità, hanno indicato che questo è possibile almeno tra alcuni metodi hs-cTnI che utilizzano un simile sistema di anticorpi monoclonali (46). Questi studi hanno utilizzato un algoritmo matematico per arrivare ad una migliore armonizzazione tra i metodi hs-cTnI (45), precedentemente validato per l'armonizzazione dei metodi immunometrici per la misura del TSH (56-58). Purtroppo, questo studio preliminare presenta sia il limite di aver utilizzato campioni raccolti in un solo centro, che di aver confrontato solo pochi metodi hs-cTnI (solo 3) (46).

Il GdS sta cercando con la collaborazione della rete di Laboratori Clinici Italiani (27) di allestire un più largo database costituito da migliaia di valori misurati con i più utilizzati metodi per la misura delle hs-cTnI e hs-cTnT, possibilmente utilizzando sia valori di soggetti adulti che in età pediatrica.

## **3. Valutazioni delle differenze fisiopatologiche e cliniche tra i livelli di hs-cTnI e hs-cTnT.**

E' noto che vi sono sostanziali differenze tra le caratteristiche sia biochimiche che fisiologiche delle due troponine cardiache (8,35,39,47). È quindi logico attendersi delle differenze nei valori misurati con i metodi hs-cTnI e hs-cTnT, sia nei soggetti sani che nei pazienti con malattie cardiovascolari (8,35,39,47). D'altro canto, sembra logico attendersi che i livelli circolanti delle due troponine si comportino in maniera simile nelle varie patologie sia cardiache che extra-cardiache. In effetti, sebbene una ottima correlazione sia stata dimostrata nelle maggior parte delle malattie cardiovascolari, in alcune patologie caratterizzate da una attivazione cronica del gene della TnT del muscolo scheletrico, come in pazienti con malattie neuro-muscolari congenite o con malattie auto-immuni croniche che colpiscono l'apparato muscolo-scheletrico, si sono dimostrate discrepanze tra i metodi hs-cTnI e hs-cTnT (8-15). In alcuni di questi pazienti con malattie croniche del sistema muscolo-scheletrico, i valori di hs-cTnT possono essere elevati al di sopra del valore decisionale (cioè il 99° percentile URL) suggerendo un danno cardiaco, mentre i valori di cTnI sono ancora inferiori al limite di riferimento (8-15).

Recenti studi hanno dimostrato che in un numero significativo di pazienti con sospetto di malattie cardiovascolari (fino a circa il 20%) si riscontra una mis-classificazione clinica con differenti valori al di sopra del livello decisionale se rispettivamente misurati con metodi hsTnTo hs-cTnI (8,61,62). Non è chiaro se questa mis-classificazione sia (almeno in parte dovuta) all'errore sistematico di misura tra i metodi hs-cTnI e hs-cTnT. In particolare, si potrebbe ipotizzare che vi sia una differenza sistematica del valore decisionale dei rispettivi metodi per la misura delle due troponine, dovuta alla marcata distribuzione asimmetrica del biomarcatore, soprattutto quando si prendono in considerazione valori decisionali distinti per età e sesso (6,26,35,39). Per una valutazione più accurata di queste discrepanze tra i valori decisionali di hs-cTnI e hs-cTnT sono necessari dei larghi database

costituiti con risultati sia di soggetti normali, in cui l'assenza di malattie cardiache ed extra-cardiache sia ben accertata secondo i criteri delle linee guida internazionali, che di pazienti con malattie cardiovascolari, ben caratterizzati dal punto di vista clinico, mediante sia test di laboratorio che con tecniche di imaging del sistema cardiovascolare (**6,21,22,26,35,36,39,63-69**). Tali database possono essere costituiti solo con la collaborazione di molti Istituti di Ricerca e Ospedali Regionali, sotto l'egida di Società Scientifiche e dei rispettivi GdS.

#### ***4. Valore aggiunto della misura combinata dei biomarcatori cardio-specifici nella valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione generale e in specifiche condizioni cliniche.***

##### *Popolazione generale*

Numerosi studi clinici, incluse tre meta-analisi, hanno dimostrato che il rischio per morte e per eventi avversi cardiovascolari (*Major Adverse Cardiovascular Events*, MACE, come: IMA, ictus, scompenso cardiaco, aritmie cardiache, embolia polmonare) aumenta nella popolazione generale già per valori inferiori al 99° percentile per i metodi hs-cTnI e hs-cTnT (**16,17**). In particolare, gli individui apparentemente sani e liberi da malattie cardiovascolari, ma che hanno valori del biomarcatore nel terzo terzile (>66,6° percentile) presentano un rischio significativamente più elevato rispetto a coloro che hanno valori nel primo terzile (<33,3° percentile)(**16,17**). Molti altri studi hanno dimostrato che valori elevati di entrambi i biomarcatori cardio-specifici (PNC e hs-cTn) migliorano significativamente la stratificazione del rischio anche nella popolazione generale (**16,17,64-67**).

Sebbene le linee guida internazionali non abbiano ancora inserito la misura dei biomarcatori cardio-specifici per stratificazione del rischio cardiovascolare nella popolazione generale, due recenti documenti supportati dalle Società Scientifiche Italiane e straniere hanno ben evidenziato l'importanza dell'utilizzo della misura dei marcatori cardio-specifici per la valutazione del rischio nella popolazione generale (**16,17**). In particolare, il GdS Italiano dei Biomarcatori Cardiaca ha pubblicato nel 2020 un documento (**16**) sull'importanza dell'utilizzo dei biomarcatori cardio-specifici per una precoce individuazione dei soggetti ancora asintomatici, ma a più elevato rischio di presentare a medio-lungo termine (> 6 mesi) MACE o una progressione rapida verso lo scompenso cardiaco sintomatico. Il documento suggerisce inoltre, l'importanza di implementare in tutti i paesi sotto l'egida di Società Scientifiche studi multicentrici in grado di valutare il costo/beneficio della valutazione del rischio cardiovascolare nella popolazione generale mediante la misura dei biomarcatori cardio-specifici (**16,17**).

##### *Pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia maggiore non cardiovascolare*

La valutazione del rischio cardiovascolare in pazienti sottoposti ad intervento di chirurgia extra-cardiaca maggiore è un problema ancora largamente sottovalutato nella pratica clinica non solo in Italia, ma anche nel mondo. La chirurgia maggiore comporta l'apertura di una delle principali cavità del corpo (cioè: addome, torace e cranio). Nonostante il numero di eventi avversi sia andato diminuendo in questi ultimi anni nei pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia maggiore non cardiovascolare, tuttavia, dati recenti della letteratura evidenziano che i pazienti che si sottopongono ad interventi di chirurgia maggiore extra-cardiaca mostrano un aumentato rischio di sviluppare eventi cardiovascolari durante la fase peri-operatoria (**71-81**). In particolare, le linee guida ESC/ESA (*European Society of Cardiology/European Society of Anaesthesiology*) pubblicate nel 2014, riportano che ogni anno nei paesi europei, si possono riscontrare circa 167000 complicanze cardiache che derivano da procedure chirurgiche che non interessano l'apparato cardiovascolare, di cui ben 19000 (cioè 11,4%) sono associate a pericolo di vita (**71**).

Purtroppo la possibilità di predire la comparsa di eventi cardiovascolari avversi è tuttora limitata, nonostante negli anni siano stati introdotti diversi algoritmi per calcolare il rischio di eventi avversi, principalmente morte e MACE. Questi algoritmi utilizzano sia l'anamnesi clinica, che fattori di rischio (sesso, età, profilo lipidico e concentrazione di creatinina) e anche test cardiaci non invasivi

(elettrocardiogramma, ecocardiogramma, stress test) per il calcolo (*score*) del rischio cardiovascolare (74,75). Per migliorare la valutazione del rischio, è stata, più recentemente, proposta la misura dei biomarcatori cardio-specifici, cioè la misura di PNC e di hs-cTn (73,74,76-78).

In questi ultimi 10 anni, con il progressivo affermarsi nella pratica clinica dei metodi ad alta sensibilità per la misura delle due troponine (metodi hs-cTnI e hs-cTnT), sempre più frequentemente il riscontro di valori elevati di hs-cTnI e hs-cTnT è stato associato ad un maggior rischio di MACE a breve e lungo termine in pazienti sottoposti ad interventi chirurgici non cardiaci (82-84). Numerosi altri studi, incluse alcune meta-analisi (82-87), hanno, invece, stimato l'associazione tra hs-cTnT e rischio cardiovascolare peri-operatorio. Nonostante le grandi differenze in termini di disegno sperimentale, numero di pazienti arruolati, tipo di chirurgia non cardiaca ed esiti, il tasso di mortalità era chiaramente più elevato nei pazienti con la presenza di un danno cardiaco durante l'intervento di chirurgia maggiore non cardiaca (MINS), diagnosticato mediante la misura di hs-cTn, rispetto a quelli senza MINS (78,81,82).

Nonostante, queste evidenze, che hanno dimostrato come la misura delle hs-cTnI e hs-cTnT, sia molto importante per valutare il rischio di MACE e, in particolare di MINS, nei pazienti sottoposti ad interventi di chirurgia maggiore, al momento non sono state emesse raccomandazioni specifiche da parte di linee guida interazionali sull'utilizzo della misura delle hs-cTn nel periodo peri-operatorio. Per questo motivo, il GdS Inter-societario dei Biomarcatori Cardiaci ha preparato un documento con lo scopo di stimolare l'attenzione sia dei clinici, ma soprattutto delle Società Scientifiche interessate, su questo importante problema (87). In particolare, in questo documento si suggerisce che la misura di BNP/NT-proBNP e hs-cTn debba essere effettuata in tutti i pazienti durante la valutazione clinica pre-operatoria, soprattutto nel caso di interventi chirurgici a rischio intermedio o alto, o in pazienti di età >65 anni e/o ad alto rischio di MACE a causa di co-morbidità (87). Infatti, solo la misura dei biomarcatori cardio-specifici, durante il periodo pre-operatorio, permette di valutare accuratamente le variazioni dei livelli circolanti dei biomarcatori cardio-specifici che possono essere strettamente collegate con alterazioni sulla funzione cardiaca (aumento di BNP/NT-proBNP) ed eventuali danni miocardici (aumento di hs-cTn) derivanti dall'effetto stressante dell'intervento chirurgico (87). Tuttavia, il documento osserva anche che rimangono ancora diverse questioni da affrontare in studi clinici dedicati, in particolare: 1) ottimizzare la gestione dei pazienti con una concentrazione elevata dei biomarcatori cardiaci specifici prima dell'intervento chirurgico; 2) dimostrare che una strategia basata sulla misura dei biomarcatori di fatto migliora l'esito clinico del paziente e ha un rapporto costo/efficacia positivo (87).

#### *Valutazione del rischio cardiovascolare in pazienti con neoplasie trattati con chemioterapici cardio-tossici*

E' ben noto che alcuni farmaci chemioterapici presentano un effetto cardiotossico nei pazienti in trattamento per un tumore (88-92). In questi pazienti, la rilevazione precoce di un danno cardiaco può indicare un alto rischio di un progressivo peggioramento della funzione cardiaca fino ad un quadro di scompenso cardiaco conclamato (90,92). Sono state proposte differenti definizioni di cardio-tossicità, causate dalla somministrazione di farmaci chemioterapici, in genere basate sul rilievo della presenza di alterazioni e complicazioni a livello dell'apparato cardiovascolare, come: disfunzione miocardica e scompenso cardiaco, sindromi coronariche acute, alterazioni morfo-funzionali delle valvole cardiache, aritmie, ipertensione arteriosa sistemica, ipertensione polmonare, complicazioni pericardiche, trombo-embolia, ictus (91-94).

Recenti evidenze sperimentali indicano che l'utilizzo di metodi ad alta sensibilità per la misura delle troponine cardiache consente di evidenziare precocemente la presenza di un danno miocardico dovuto all'uso terapeutico di farmaci potenzialmente cardiotossici, come la maggior parte dei farmaci antitumorali (95-107).

Le evidenze che si sono accumulate in questi ultimi anni hanno certamente evidenziato come l'utilizzo di metodi hs-cTnI e hs-cTnT sia in grado di determinare precocemente in un paziente trattato con farmaci chemioterapici la presenza di un danno cardiaco subclinico (non ancora sintomatico).

Tuttavia, il numero di studi randomizzati e controllati, che suggeriscono un protocollo standardizzato di monitoraggio del trattamento chemioterapico in grado di proteggere i pazienti con elevati valori di hs-cTnI e cTnT da una progressione verso lo scompenso cardiaco conclamato, è ancora limitato.

Per questi motivi, Il GdS dei Biomarcatori Cardiaca ha pubblicato nel 2020 un documento sulla rilevanza fisiopatologica e clinica della misura di hs-cTnI e hs-cTnT in pazienti con tumori trattati con farmaci chemioterapici potenzialmente cardiotossici (24). Lo scopo di questo documento è quello di esaminare le evidenze sperimentali e cliniche che dimostrano l'utilità dei metodi hs-cTnI e hs-cTnT nell'accertamento precoce della presenza di un danno miocardico in un paziente trattato con un farmaco chemioterapico anti-tumorale. Grazie alla sensibilità e specificità dei metodi hs-cTnI e hs-cTnT i pazienti a più basso rischio cardiovascolare sono prontamente identificati e quindi possono essere seguiti utilizzando un monitoraggio clinico meno impegnativo da parte del paziente. D'altra parte, i pazienti che presentano elevati livelli circolanti sia dei peptidi natriuretici che delle troponine devono essere considerati ad alto rischio per la possibilità di una rapida progressione verso lo scompenso cardiaco sintomatico. Questi pazienti devono, quindi, essere monitorati costantemente nel tempo dal punto di vista clinico, utilizzando sia metodi di laboratorio che tecniche di imaging cardiaco e necessitano anche di una specifica terapia cardio-protettiva (24). In particolare, le linee guida ESC pubblicate nel 2022 (108) raccomandano (classe 1, livello C) la misura dei PNC e di hs-cTn in tutti i pazienti con tumori a rischio di sviluppare disfunzione miocardica a causa della somministrazione di chemioterapici cardio-tossici. Le linee guida suggeriscono anche che ogni paziente, che deve essere trattato con farmaci chemioterapici cardio-tossici, dovrebbe effettuare un prelievo basale (cioè prima dell'inizio della terapia) per la misura sia dei PNC (BNP o NT-proBNP) che delle troponine (hs-cTnI o hs-cTnT) (24,108,109-111). Il prelievo basale risulta indispensabile in tutti i pazienti perché è ben noto che vi sono differenze sistematiche tra i metodi di misura dei biomarcatori cardiaca. Inoltre, la misura dovrebbe essere effettuata sempre con lo stesso metodo e possibilmente nello stesso laboratorio (24).

#### *Importanza fisiopatologia e clinica delle variazioni dei livelli circolanti di hs-cTnI e hs-cTnT*

Considerando le stringenti specifiche di qualità richieste dalle linee guida internazionali, soprattutto riguardo ai valori di LoD e di valore soglia per la diagnosi di danno cardiaco (4,21,26,35,36,39,65), appare evidente come risultato fondamentale non solo la valutazione dell'errore analitico associato alla misura del 99° percentile URL, ma soprattutto la possibile variazione dei livelli del biomarcatore nello stesso paziente durante il monitoraggio (che può essere di alcuni giorni, ma anche di anni) di una malattia cardiovascolare, sia acuta che cronica. Allo scopo di analizzare più in dettaglio la rilevanza clinica della variabilità biologica di hs-cTnI e hs-cTnT, nel corso dell'anno 2022 è stato preparato dal GdS dei Biomarcatori Cardiaca un nuovo documento dal titolo "Caratteristiche analitiche e importanza clinica della variabilità delle troponine cardiache nei soggetti normali e nei pazienti con malattie cardiovascolari", pubblicato in versione italiana sulla rivista *Ligand assay* (111).

E' ben noto che la variabilità dei livelli circolanti di hs-cTnI e hs-cTnT nel tempo nello stesso soggetto/paziente, dipende sia dall'errore analitico del metodo utilizzato, sia dalla variabilità intra-individuale del biomarcatore. Molti studi effettuati anche dal GdS hanno dimostrato che sebbene i metodi hs-cTnI e hs-cTnT misurino concentrazioni differenti del biomarcatore nello stesso campione del soggetto/paziente (espresse come ng/L), tuttavia le variazioni dei livelli tra due (o più) campioni espresse come percentuale risultano simili, soprattutto per i valori prossimi al cut-off del metodo (cioè il valore del 99°percentile URL) (5,27,39-42,44,46). In particolare, i valori di *Reference Change Value* (RCV) (stimati con una probabilità del 95%) di hs-cTnI e hs-cTnT per una serie di due campioni sono stati riportati variare in media del 32% (con un minimo di circa il 25% e un massimo di circa il 45%), considerando molti studi sia sperimentali che clinici(5,27,39-42,44,46).

E' importante sottolineare che vi sono delle differenze significative per quanto riguarda la variabilità biologica dei biomarcatori cardio-specifici (cioè PNC e hs-cTn). Infatti, i PNC presentano



una variabilità intra-individuale (CVi) elevata, simile a quella inter-individuale per cui l'indice di variabilità individuale risulta >0,6; al contrario, l'indice di variabilità individuale di cTnI e cTnT risulta molto inferiore essendo mediamente 0,3 sia per i metodi hs-cTnI che per il metodo hs-cTnT (**5,39**). Queste evidenze sulla variabilità biologica suggeriscono che per ottimizzare la precisione statistica e l'accuratezza diagnostica dei metodi hs-cTnI e hs-cTnT non è opportuno confrontare i singoli valori relativi ad un determinato soggetto/paziente con gli intervalli di riferimento di quel marcatore misurati nella popolazione di riferimento, che presentano limiti di confidenza certamente molto estesi (come il 99° percentile URL), ma invece utilizzare valori del biomarcatore misurati con lo stesso metodo su campioni raccolti in serie in tempi differenti (**5,39**).

Queste considerazioni di carattere analitico e fisiopatologico risultano molto utili nella rilevazione diagnostica della presenza di un danno miocardico acuto in alcune condizioni cliniche come: a) per la diagnosi differenziale di SCA nei pazienti ammessi al DEU (**4,21-23,65**); b) per la valutazione del rischio cardiovascolare sia nei pazienti adulti e in età pediatrica sottoposti ad un intervento di chirurgia maggiore (**73,78,82,83,85,87**), che nei soggetti asintomatici della popolazione generale con età > 55 anni e con co-morbidità (**16,17,50**); c) per la valutazione della cardio-tossicità causata dal trattamento con farmaci chemio-terapici nei pazienti con tumori (**24,25,98-110**).

Infine, è importante sottolineare, ancora una volta, che è essenziale dal punto di vista analitico che le variazioni nel tempo di hs-cTnI e hs-cTnT in uno stesso individuo/paziente siano valutate utilizzando sempre lo stesso metodo e possibilmente lo stesso laboratorio. Inoltre, è importante che i valori ottenuti siano sempre confrontati rispetto a un valore basale, come ad esempio: all'ammissione al DEU di un paziente con sospetto di SCA, oppure al paziente prima di un intervento chirurgico programmato (i.e., durante la valutazione pre-operatoria), o primadella somministrazione di un chemioterapico potenzialmente cardiotossico a un paziente con tumore (**5,39**).

## **PROGETTI FUTURI**

Nei prossimi anni il GdS cercherà di approfondire utilizzando degli studi sperimentali e documenti di consenso *ad hoc* alcuni aspetti ancora poco conosciuti o ancora controversi sull'utilizzo dei biomarcatori cardio-vascolari nella pratica clinica delle malattie cardiovascolari. Soprattutto due importanti argomenti meritano ulteriori approfondimenti come è discusso in dettaglio nei paragrafi seguenti.

### ***Dipendenza dal sesso dei biomarcatori cardiaci***

In questi ultimi anni, un crescente interesse ha suscitato lo studio delle differenze legate al sesso che riguardano sia la fisiopatologia che la prognosi delle condizioni cardiovascolari collegate alla malattia ischemica coronarica (*Coronary Artery Disease*, CAD) (**112**). Sebbene i classici fattori di rischio cardiovascolare (ipertensione, ipercolesterolemia, diabete mellito e fumo di sigarette) siano sempre considerati i maggiori fattori legati allo sviluppo della CAD, tuttavia gli studi più recenti sono rivolti soprattutto a spiegare come questi fattori di rischio possano interagire diversamente nei due sessi (**112**). In particolare, questi più recenti studi cercano di valutare la rilevanza prognostica di alcuni biomarcatori strettamente collegati ai meccanismi della infiammazione, della senescenza e della necrosi miocardica (**112,113**). Inoltre, importanti differenze esistono anche riguardo alla epidemiologia, co-morbidità e caratteristiche cliniche tra le differenti forme di insufficienza cardiaca (*Heart Failure*, HF) che colpiscono i due sessi (**114,115**). Infatti, le donne hanno un rischio minore di incidenza di HF rispetto agli uomini, dall'età di circa 50 anni fino a circa 70-75 anni, ma poi nella vecchiaia il rischio si riduce e le donne presentano un rischio più elevato (**114-116**). In particolare, gli uomini tendono a mostrare un più elevato rischio di sviluppare la forma di HF con ridotta frazione di eiezione (HF<sub>r</sub>EF), mentre le donne più facilmente presentano la forma di HF con preservata frazione di eiezione (HF<sub>p</sub>EF) (**114-117**). Inoltre, a pari età, le donne presentano livelli circolanti più elevati di PNC e di Galectina-3 (GAL-3), ma meno elevati di hs-cTn e sST2 (**6,7,20,111,114-116**).

Sembra, quindi, assai importante comprendere meglio questi meccanismi fisiopatologici legati alle differenze tra i sessi per trovare dei migliori approcci sia in ambito della prevenzione del rischio che

della eventuale terapia sesso-mirata per le malattie cardiovascolari in generale, ma soprattutto per la HF (**118**). Sia il sesso (determinato dai cromosomi sessuali X e Y e dalla secrezione gli ormoni steroidei da parte delle gonadi) che il genere (fattori sociali e culturali associati con la mascolinità e la femminilità) influenzano le differenze tra uomini e donne strettamente collegate con la suscettibilità alle patologie cardiovascolari (**118**). Molti fattori possono già fornire una prima valida indicazione fisiologica per queste differenze legate al sesso, come: la conformazione corporea, la distribuzione del grasso e la distinzione tra menopausa e andropausa (**118**).

Sebbene molti studi abbiano ormai accertato l'importanza della valutazione dei biomarcatori cardiaci nella diagnosi e nella prognosi delle malattie cardiovascolari (**5-7,16,20,33,48-50,65,111,112,114-116**), tuttavia alcune importanti aspetti fisiopatologici (come la variabilità biologica, la cinetica in vivo e i meccanismi correlati alle diverse patologie) e l'utilizzo dei biomarcatori cardiaci nella pratica clinica (come soprattutto i valori soglia sesso-specifici per le differenti patologie cardiovascolari) devono essere meglio messi a punto mediante studi multicentrici specifici (**114**).

### ***Valutazione della variazione dei biomarcatori cardio-specifici durante l'esercizio fisico, la pratica sportiva amatoriale e lo sport professionistico***

E' ben noto che l'attività fisica intensa può aumentare significativamente i livelli circolanti di hs-cTnI a hs-cTnT in soggetti sani di ogni età, tuttavia non vi è ancora un consenso generale riguardo all'interpretazione fisiopatologica e clinica sulla possibile relazione tra le variazioni del biomarcatore dopo esercizio fisico intenso e il rischio cardiovascolare (**119-125**). L'attività fisica è unanimemente consigliata come buona pratica per la prevenzione di tutte le malattie correlate allo stile di vita, incluse le malattie cardiovascolari, il diabete mellito di Tipo 2, l'obesità ed anche alcuni tumori (**124-135**). Tuttavia, recenti studi hanno suggerito che un esercizio estremo (come ad esempio le gare di ultramaratona) possa avere degli effetti dannosi sulla salute, soprattutto se praticato da soggetti non più giovani (**132**). In particolare, è ben noto che praticare con continuità attività fisica intensa, può aumentare in maniera significativa il rischio di aritmie anche fatali per arresto cardiaco in giovani atleti, portatori di cardiomiopatie congenite (*Sudden Cardiac Death/ Cardiac Arrest, SCD/CA*)(**132,136**).

Il documento di consenso pubblicato nel 2019 dalla Sezione di Cardiologia della Medicina dello Sport della EAPC (*European Association of Preventive Cardiology*) (**136**) si propone lo scopo di fornire delle raccomandazioni da utilizzare nella pratica clinica per la valutazione del rischio cardiovascolare negli atleti asintomatici che praticano attività fisica continuativa, non solo di tipo amatoriale, ma anche per sport competitivi e di carattere professionale. In particolare, l'accertamento della presenza di una miocardiopatia in un atleta asintomatico riveste importanti implicazioni riguardo alla continuazione della sua partecipazione ad attività sportive che richiedono esercizio fisico intenso (**136**). Come discusso nel documento della EAPC, la valutazione di idoneità medico sportiva richiede un attento bilanciamento, considerando da una parte i possibili effetti avversi dell'esercizio fisico sul tessuto miocardico e sulla funzionalità in toto del sistema cardiovascolare, ma anche dall'altra la possibilità di negare all'atleta i benefici dell'esercizio fisico e soprattutto escluderlo dalla legittima aspirazione di eccellere nel suo sport preferito e rinunciare ai guadagni della professione sportiva (**136**). Il documento EAPC 2019 riporta raccomandazioni specifiche per otto differenti condizioni fisiopatologiche e cliniche legate alle miocardiopatie negli atleti: 1) miocardiopatia ipertrofica (*Hypertrophic Cardio-Myopathy*, HCM); 2) miocardiopatia dilatativa (*Dilated Cardio-Myopathy*, DCM); 3) miocardiopatia del ventricolo sinistro non compattato (*Left Ventricular Non-compaction Cardio-myopathy*, LVNC); 4) miocardiopatia aritmogena del ventricolo destro (*Arrhythmogenic Right Ventricular Cardio-Myopathy*, ARCV) definita anche più semplicemente miocardiopatia aritmogena (*Arrhythmogenic Cardio-myopathy*, AC); 5) atleti con isolate alterazioni elettrocardiografiche; 6) atleti con miocardiopatia, ma con defibrillatore impiantato; 7) miocardite; 8) pericardite (**136**). Di questi differenti quadri fisiopatologici e clinici

sono definiti in dettaglio la eziopatogenesi, la presentazione clinica e il processo diagnostico che utilizza: l'esame elettrocardiografico completo (12-derivazioni), l'ecocardiografia e la risonanza magnetica nucleare del cuore (*Cardiac Magnetic Resonance*, CMR). Il test genetico è ritenuto indispensabile nelle miocardiopatie di possibile origine congenita per la diagnosi eziologica definitiva. In alcuni casi (come miocardite e pericardite) è raccomandata la biopsia cardiaca per effettuare l'esame microscopico del tessuto miocardico e/o pericardico (**136**).

Il documento puntualizza come la stratificazione del rischio negli atleti sia molto difficoltosa perché è difficile estrapolare le informazioni raccolte in genere in una popolazione di controllo sedentaria, con i possibili risultati che si possono ottenere negli atleti, che sono soggetti a stress fisici e metabolici molto intensi che possono produrre aritmie fatali (**136**). In particolare, il documento sottolinea come alcuni atleti possano mostrare episodi di aritmia anche fatale (SCD/CA) senza avere alcun convenzionale fattore di rischio per SCD/CA. Inoltre, l'episodio aritmico fatale può insorgere alcuni anni dopo che l'atleta ha iniziato l'attività sportiva, che si era svolta fino a quel momento senza mostrare sintomi (**136**). In accordo con queste difficoltà diagnostiche e prognostiche, il documento raccomanda, quindi, un approccio personalizzato per la valutazione del rischio di SCD/CA negli atleti che consideri la presenza di sintomi, i fattori di rischio, la storia naturale della presenza di una malattia cardiovascolare, l'età dell'atleta, l'attività sportiva svolta precedentemente e le caratteristiche peculiari dell'attività sportiva (**136**).

E' da notare che il documento di consenso EAPC 2019 (**136**) non prende in considerazione la misura dei biomarcatori cardiaci specifici (quindi sia PNC che hs-cTn) come possibile utile strumento diagnostico o prognostico raccomandato per valutare la stratificazione del rischio negli atleti.

Questa non menzione della possibile utilità della misura dei biomarcatori cardiaci dovrebbe essere giudicata almeno singolare dato che la misura dei biomarcatori cardiaci è giudicata essenziale nella diagnosi di presenza di danno miocardico (**4**) e utile per la stratificazione del rischio cardiovascolare sia nella popolazione generale (quindi soggetti asintomatici) (**16,17**) che nei pazienti sintomatici con malattie cardiovascolari di origine ischemica (**21-23,50,106**), come anche nei pazienti con insufficienza cardiaca sintomatica o ancora asintomatica (**33,115-117**). In particolare, una recente revisione sistematica ha confermato che i valori di hs-cTnI e hs-cTnT possono aumentare sia nei giovani (<35 anni) che negli atleti adulti ( $\geq 35$  anni) dopo attività fisica intensa o una competizione sportiva (**119**). Sebbene tutti gli studi confermino che un innalzamento dei valori di hs-cTnI e hs-cTnT dopo attività fisica intensa o una attività sportiva di tipo agonistico sia da considerarsi un fenomeno fisiologico (**119-123**) tuttavia, in alcuni casi, i livelli del biomarcatore possono innalzarsi al di sopra del 99° percentile URL. In alcuni di questi atleti, il riscontro di elevati livelli di hs-cTnI e hs-cTnT potrebbe suggerire che l'attività fisica possa causare un danno cardiaco, in accordo con il documento *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction*(**4**).

La presenza di un danno miocardico acuto o cronico, accertato con l'aumento dei livelli di hs-cTnI e hs-cTnT al di sopra del 99° percentile URL (**4**), è considerata un importante fattore di rischio per MACE (forse il più significativo dal punto di vista statistico) in tutti i pazienti con miocardiopatie di differente eziologia, indipendentemente dall'età e sesso del soggetto, come riportato da molti documenti di esperti, linee-guida, rassegne sistematiche e meta-analisi(**21-23,33,50,54,57,58,60,106,115-117,137-140**). Inoltre, molti recenti studi clinici e meta-analisi hanno dimostrato che nella popolazione generale anche soggetti adulti, ancora asintomatici per malattie cardiovascolari, che hanno valori di hs-cTnI e hs-cTnT compresi nel terzile superiore della distribuzione del biomarcatore, presentano un rischio di sviluppare MACE nel medio-lungo periodo significativamente superiore dei soggetti con valori del biomarcatore meno elevati (**16,17,138,141-148**). Considerando queste evidenze, il reperto di elevati valori di hs-cTnI e hs-cTnT al di sopra del 99°percentile URL, evidenziati in differenti campioni distanziati nel tempo in individui che praticano con assiduità attività sportiva, impegnativa per intensità e durata, dovrebbe suggerire al clinico di valutare il rischio cardiovascolare in modo più accurato. E' importante sottolineare che è ormai accertato che gli esami funzionali raccomandati dal documento di consenso EAPC 2019 (**136**) (cioè l'esame elettrocardiografico completo, l'ecocardiografia e la risonanza magnetica nucleare del cuore) per la

valutazione del rischio cardiovascolare in atleti hanno una sensibilità e specificità inferiore alla misura di hs-cTnI e hs-cTnT nell'evidenziare la presenza di un danno miocardico (**4,6,18,19,54,60**).

Studi *ad hoc* per identificare i meccanismi responsabili della liberazione del biomarcatore dai cardiomiociti negli atleti sono necessari per stabilire se l'aumento della concentrazione di hs-cTnI e hs-cTnT possa essere di tipo fisiologico o invece patologico (**6,18,19,60,149**). Purtroppo, gli studi fino ad ora effettuati risultano al momento non decisivi al riguardo. Allo stato attuale, i risultati ottenuti sembrano suggerire che il rilascio aumentato del biomarcatore dopo sforzo fisico intenso, sia da attribuire più alla intensità dell'esercizio fisico che alla sua durata, anche se i livelli di hs-cTnI e hs-cTnT risultano in genere più elevati dopo gare sportive più prolungate, come quelle ciclistiche o podistiche (come la maratona) (**53,54,60,149**). Dal punto di vista strettamente fisiopatologico e clinico si potrebbe suggerire che i livelli circolanti di hs-cTnI e hs-cTnT dovrebbero essere considerati come indice di danno miocardico, piuttosto che di severità della malattia coronarica per sé (*Coronary Artery Disease, CAD*) (**60**).

## BIBLIOGRAFIA

1. Sackett DI, Haynes RB, Guyatt GH, Tudwell P. Clinical Epidemiology. A basic science for clinical medicine. Second Edition. Little, Brown and Company, Boston, 1991.
2. Pepe MS. The statistical evaluation of medical test for classification and prediction. Oxford Statistical Science Series, vol 31. Oxford University Press 2003, New York.
3. Fletcher RH, Fletcher SW, Fletcher GS. Clinical Epidemiology. The essentials. Fifth Edition. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. Philadelphia 2014.
4. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al., ESC Scientific Document Group. Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018). Eur Heart J 2019;40:237-69.
5. Clerico A, Padoan A, Zaninotto M, Plebani M. Clinical relevance of biological variation of cardiac troponins. Clin Chem Lab Med 2020; 59:641-652.
6. Giannoni A, Giovannini S, Clerico A. Measurement of circulating concentrations of cardiac troponin I and T in healthy subjects: a tool for monitoring myocardial tissue renewal? Clin Chem Lab Med 2009;47:1167-77.
7. Caselli C, Cangemi G, Masotti S, et al. Plasma cardiac troponin I concentrations in healthy neonates, children and adolescents measured with a highly sensitive immunoassay method: Highly sensitive troponin I in pediatric age. Clin Chim Acta 2016;458:68-71.
8. Perrone MA, Storti S, Salvadori S, Pecori A, Bernerdini S, Romeo F, et al. Cardiac troponins: are there any differences between T and I. J Cardiovasc Med 2021; 22:797-805.
9. Giannitsis E, Mueller C, Katus HA. Skeletal myopathies as a non-cardiac cause of elevations of cardiac troponin concentrations. Diagnosis 2019;6:189-201.
10. Aggarwal R, Lebiez-Odrobina D, Sinha A, Manadan A, Case JP. Serum cardiac troponin T, but not troponin I, is elevated in idiopathic inflammatory myopathies. J Rheumatol 2009;36:2711.
11. Cox F, Delgado V, Verschuuren J, et al. The heart in sporadic inclusion body myositis: a study in 51 patients. J Neurol 2010;257:447-51.
12. Jaffe AS, Vasile VC, Milome M, Saenger AK, Olson KN, Apple AS. Diseased skeletal muscle. A noncardiac source of increased circulating concentrations of cardiac troponin T. J Am Coll Cardiol 2011;58:1819-24.
13. Rittoo D, Jones A, Lecky B, Neithercut D. Elevation of cardiac troponin T, but not cardiac troponin I, in patients with neuromuscular diseases. J Am Coll Cardiol 2014;63:2411-20.
14. Hughes M, Lilleker VB, Herrick AL, Chinoy H. Cardiac troponin testing in idiopathic inflammatory myopathies and systemic sclerosis-spectrum disorders: biomarkers to distinguish between primary cardiac involvement and low grade skeletal muscle disease activity. Ann Rheum Dis 2015;74:795-8.
15. Schmid J, Liesinger L, Bimer-Gruenberg R, et al. Elevated cardiac troponin T in patients with skeletal myopathies. J Am Coll Cardiol 2018;71:1540-9.

16. Clerico A, Zaninotto M, Passino C, et al. Evidence on clinical relevance of cardiovascular risk evaluation in the general population using cardio-specific biomarkers. *Clin Chem Lab Med* 2020; 59:79-90.
17. Farmakis D, Mueller C, Apple FS. High-sensitivity cardiac troponin assays for cardiovascular risk stratification in the general population. *Eur Heart J* 2021;41:4050-4056.
18. Mair J, Lindahl B, Hammarsten O, et al. How is cardiac troponin released from injured myocardium?. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2018;7:553–60.
19. Marjot J, Kaier TE, Martin ED, Reji SS, Copeland O, Iqbal M, et al. Quantifying the release of biomarkers of myocardial necrosis from cardiac myocytes and intact myocardium. *Clin Chem* 2017; 63:990–6.
20. Perrone MA, Zaninotto M, Masotti S, et al. The combined measurement of high-sensitivity cardiac troponins and natriuretic peptides: a useful tool for clinicians? *J Cardiovasc Med* 2020, 21:953–963.
21. Wu AHB, Christenson RH, Greene DN, et al. Clinical laboratory practice recommendations for the use of cardiac troponin in acute coronary syndrome: Expert opinion from the Academy of the American Association for Clinical Chemistry and the Task Force on Clinical Applications of Cardiac Bio-Markers of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine. *Clin Chem* 2018;64:645-55.
22. Januzzi JL Jr, Mahler SA, Christenson RH, et al. Recommendations for institutions transitioning to high-sensitivity troponin testing. *JAAC Scientific Expert Panel. J Am Coll Cardiol* 2019;73:1059-77.
23. Collet JP, Thiele H, Barbato E, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2020 Aug 29;ehaa575. doi: 10.1093/eurheartj/ehaa575. Online ahead of print.
24. Clerico A, Cardinale DM, Zaninotto M, et al. High-sensitivity cardiac troponin I and T methods for the early detection of myocardial injury in patients on chemotherapy. *Clin Chem Lab Med* 2020; 59:513-521.
25. Cardinale DM, Zaninotto M, Cipolla CM, et al. Cardiotoxic effects and myocardial injury: the search for a more precise definition of drug cardiotoxicity. *Clin Chem Lab Med* 2020; 59:51-57.
26. Clerico A, Zaninotto M, Ripoli A, et al. The 99th percentile of reference population for cTnI and cTnT assay: methodology, pathophysiology and clinical implications. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55(11): 1634–1651.
27. Clerico A, Ripoli A, Zaninotto M, et al. Head-to-head comparison of plasma cTnI concentration values measured with three high-sensitivity methods in a large Italian population of healthy volunteers and patients admitted to emergency department with acute coronary syndrome: A multi-center study. *Clin Chim Acta* 2019; 496:25–34.
28. Hlatky MA, Greenland P, Arnett DK, et al.; on behalf of the American Heart Association Expert Panel on Subclinical Atherosclerotic Diseases and Emerging Risk Factors and the Stroke Council. Criteria for evaluation of novel markers of cardiovascular risk: a Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation*. 2009;119:2408–2416.
29. Wang TJ. Assessing the role of circulating, genetic, and imaging biomarkers in cardiovascular risk prediction. *Circulation* 2011, 123:551-565.
30. Barabasi AL. *Network science*. Cambridge University Press, 2016.
31. Newman M. *Networks: an introduction*. OUP Oxford press, 201. Clerico A, Ripoli A, Fortunato A, et al. Harmonization protocols for TSH immunoassays: a multicenter study in Italy. *Clin Chem Lab Med* 2017;55:1722-1733.
32. Clerico A, Ripoli A, Fortunato A, et al., on behalf of the Italian Section of the European Ligand Assay Society (ELAS). Harmonization protocols for TSH immunoassays: a multicenter study in Italy. *Clin Chem Lab Med* 2017; 55(11): 1722–1733.

33. Aspromonte N, Gulizia MM, Clerico A, et al. ANMCO/ELAS/SIBioC Consensus Document: biomarkers in heart failure. *Eur Heart J Suppl* 2017;19(Suppl D):D102-D112.
34. Masotti S, Prontera C, Musetti V, et al. Evaluation of analytical performance of a new high-sensitivity immunoassay for cardiac troponin I. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:492-501.
35. Clerico A, Zaninotto M, Masotti S, et al. Valutazione delle caratteristiche analitiche dei metodi di misura delle troponine cardiache I e T: dalla teoria alla pratica di laboratorio. Documento congiunto del Gruppo di Studio Biomarcatori Cardiovascolari di SIBioC-Medicina di Laboratorio ed European Ligand Assay Society (ELAS). *Biochimica Clinica* 2018;42:155-66.
36. Clerico A, Zaninotto M, Graziani MS, et al. Quality specifications, terminology and definition of the methods for the measurement of cardiac troponins. *Biochimica Clinica* 2018; 42:343-46.
37. Musetti V, Masotti S, Prontera C, et al. Evaluation of the analytical performance of a new ADVIA immunoassay using the Centaur XPT platform system for the measurement of cardiac troponin I. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:e229-e231.
38. Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performance of a chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for cTnI using the automated AIA-CL-2400 platform. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:e174-e176.
39. Clerico A, Zaninotto M, Padoan A, et al. Evaluation of analytical performance of immunoassay methods for cTnI and cTnT: From theory to practice. *Adv Clin Chem* 2019;93:239-262.
40. Clerico A, Ripoli A, Masotti S, et al. Evaluation of 99th percentile and reference change values of a high sensitivity cTnI method: A multicenter study. *Clin Chim Acta* 2019; 493:156-61.
41. Clerico A, Masotti S, Musetti V, Ripoli A, et al. Evaluation of 99th percentile and reference change values of the hs-cTnI method using ADVIA Centaur XPT platform: A multicenter study. *Clin Chim Acta* 2019; 495:161-6.
42. Ndreu R, Musetti V, Masotti S, et al. Evaluation of reproducibility of the cTnT immunoassay using quality control samples. *Clin Chim Acta* 2019; 495:269-70.
43. Masotti S, Musetti V, Prontera C, et al. Evaluation of analytical performances using standardized analytical protocols and comparison of clinical results of the new ADVIA BNP and NT-proBNP immunoassays for the Centaur XPT platform. *Clin Chem Lab Med* 2019;57:911-917.
44. Musetti V, Masotti S, Prontera C, et al. Evaluation of reference change values for a hs-cTnI immunoassay using both plasma samples of healthy subjects and patients and quality control samples. *Clin Chem Lab Med* 2019; 57:e241-e243.
45. Masotti S, Musetti V, Aloe R, et al. Evaluation of 99th percentile value of a chemiluminescence enzyme immunoassay (CLEIA) for cTnI using the automated AIA-CL2400 platform. *Clin Chim Acta* 2019;496:45-47.
46. Clerico A, Zaninotto M, Padoan A, et al. Harmonization of two hs-cTnI methods based on recalibration of measured quality control and clinical samples. *Clin Chim Acta* 2020;510:150-156.
47. Storti S, Zaninotto M, Musetti V, et al. Le troponine I e T sono biomarcatori cardiaci interscambiabili? *Biochimica Clinica* 2020; 44(SS1):S8-S16.
48. Passino C, Zaninotto M, Masotti S, et al. La misura combinata dei biomarcatori cardio-specifici è utile nei pazienti con sospetto di malattie cardiovascolari. *Biochimica Clinica* 2020; 44(SS1):S17-S31.
49. Zaninotto M, Clerico A, Plebani M. Patologie cardiovascolari e troponine cardiache: la storia di un legame indissolubile. *Biochimica Clinica* 2020; 44(SS1):S67-S73.
50. Aspromonte N, Zaninotto M, Padoan A, et al. Valutazione del rischio cardiovascolare e del danno cardiaco asintomatico nella popolazione generale utilizzando la misura della troponina

- cardiaca con metodi ad alta sensibilità. Documento del Gruppo di Studio Inter-societario sui Biomarcatori Cardiaci. *Biochimica Clinica* 2020; 44(SS1):S86-S96.
51. Caselli C, Ragusa R, Prontera C, et al. Distribution of circulating cardiac biomarkers in healthy children: from birth through adulthood. *Biomark Med* 2016;10:357-365.
  52. Perrone MA, Passino C, Vassalle C, et al. early evaluation of myocardial injury by means of high-sensitivity methods for cardiac troponins after strenuous and prolonged exercise. *J Sports Med Phys Fitness* 2020;60:1297-1305.
  53. Perrone MA, Macrini M, Maregnani A, et al. The effects of a 50 km ultramarathon race on high sensitivity cardiac troponin I and NT-proBNP in highly trained athletes. *Minerva Cardioangiol* 2020;68:305-312.
  54. Cantinotti M, Clerico A, Giordano R et al. Cardiac troponin-T release after sport and differences by age, sex, training type, volume, and intensity: A critical review. *Clin J Sport Med* 2022;32:e230-e242.
  55. Ragusa R, Di Molfetta A, Amodeo A, Trivella MG, Caselli C. Pathophysiology and molecular signalling in pediatric heart failure and VAD therapy. *Clin Chim Acta* 2020;510:751-759.
  56. Padoan A, Clerico A, Zaninotto M, et al. Percentile transformation and recalibration functions allow harmonization of thyroid-stimulating hormone (TSH) immunoassay results. *Clin Chem Lab Med* 2020;58:1663-1672.
  57. Clerico A, Aimo A, Cantinotti M. High-sensitivity cardiac troponins in pediatric population. *Clin Chem Lab Med* 2021; 25:60:18-32.
  58. Clerico A, Aimo A, Cantinotti M. Cardiac biomarkers for outcome prediction in infant bronchiolitis: Too soon to discard troponin? *Clin Chim Acta* 2021; 518:170-172.
  59. Eijsvogels TM, Fernandez AB, Thompson PD. Are there deleterious cardiac effects of acute and chronic endurance exercise? *Physiol Rev* 2016;96:99–125.
  60. Aakre KM, Omland T. Physical activity, exercise and cardiac troponins: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 2019;62:108–15.
  61. Giannitsis E, Mueller-Hennessen M, Zeller T, et al. Gender-specific reference values for high-sensitivity cardiac troponin T and I in well-phenotyped healthy individuals and validity of high-sensitivity assay designation. *Clin Biochem* 2020;78:18-24.
  62. Mueller T, Egger M, Peer E, Dieplinger B. 5th generation cardiac troponin I and T assays in clinical routine – A head-to-head comparison with data from the Linz troponin (LITROP) study. *Clin Chim Acta* 2018;485:195-204.
  63. Mueller T, Egger M, Peer E, Jani E, Dieplinger B. Evaluation of sex-specific cut-off values of high-sensitivity cardiac troponin I and T assays in an emergency department setting - Results from the Linz Troponin (LITROP) study. *Clin Chim Acta* 2018;487:66-74.
  64. Sandoval Y, Apple FS. The global need to define normality: the 99th percentile value of cardiac troponin. *Clin Chem* 2014;60:455-462.
  65. Apple FS, Sandoval Y, Jaffe AS, Ordonez-Lianos J. IFCC Task Force on Clinical Application of Cardiac Bio-Markers. Cardiac troponin assays: guide to understanding analytical characteristics and their impact on clinical care. *Clin Chem* 2017;63:73–81.
  66. Peacock WF. Time to treatment and acute coronary syndromes: bridging the gap in rapid decision making. *Rev Cardiovasc Med* 2010;11(2 Suppl):S45–50.
  67. Everett BM, Zeller T, Glynn RJ, Ridker PM, Blankenberg S. Events in primary prevention. Impact of statin therapy. *Circulation* 2015; 131:1851–60.
  68. Shalaby AA, Abraham WT, Fonarow GG, et al. Association of BNP and troponin levels with outcome among cardiac resynchronization therapy recipients. *Pacing Clin Electrophysiol* 2015;38:581–90.
  69. du Fay de Lavallaz J, Badertscher P, Nestelberger T, et al. B-type natriuretic peptides and cardiac troponins for diagnosis and risk-stratification of syncope. *Circulation* 2019;139:2403–18.

70. Franzini M, Lorenzoni V, Masotti S, et al. The calculation of the cardiac troponin T 99th percentile of the reference population is affected by age, gender, and population selection: a multicenter study in Italy. *Clin Chim Acta* 2015;438:376–81.
71. Kristensen SD, Knuuti J, Saraste A, Anker S, Botker HE, Hert SD, et al. 2014 ESC/ESA guidelines on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management: The Joint Task Force on non-cardiac surgery: cardiovascular assessment and management of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Anaesthesiology (ESA). *Eur Heart J* 2014;35:2383–431.
72. Karakas M, Koenig W. Improved peri-operative risk stratification in non-cardiac surgery: going beyond established clinical scores. *Eur Heart J* 2013;34:796-8.
73. Clerico A, Emdin M, Passino C. Cardiac biomarkers and risk assessment in patients undergoing major non-cardiac surgery: time to revise the guidelines? *Clin Chem Lab Med* 2014;52:959-63.
74. Kalesan B, Nicewarner H, Intwala S, Leung C, Balady GJ. Pre-operative stress testing in the evaluation of patients undergoing non-cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE* 2019;14:e0219145.
75. Cao D, Chandiramani R, Capodanno D, Berger JS, Levin MA, Hawn MT, et al. Non-cardiac surgery in patients with coronary artery disease: risk evaluation and periprocedural management. *Nat Rev Cardiol* 2021;18:37-57.
76. Struthers A, Lang C. The potential to improve primary prevention in the future by using BNP/N-BNP as an indicator of silent ‘pancardiac’ target organ damage: BNP/N-BNP could become for the heart what microalbuminuria is for the kidney. *Eur Heart J* 2007;28:1678–82.
77. Duceppe E, Parlow J, MacDonald P, Lyons K, McMullen M, Srinathan S, et al. Canadian Cardiovascular Society guidelines on perioperative cardiac risk assessment and management for patients who undergo noncardiac surgery. *Can J Cardiol* 2017;33:17-32.
78. Costa MCDBG, Furtado MV, Borges FK, Ziegelmann PK, Suzumura ÉA, Berwanger O, et al. Perioperative troponin screening identifies patients at higher risk for major cardiovascular events in noncardiac surgery. *Curr Probl Cardiol* 2021;46:1000429.
79. Serrano AB, Gomez-Rojo M, Ureta E, Nuñez M, Fernández Félix B, Velasco E, et al. Preoperative clinical model to predict myocardial injury after non-cardiac surgery: a retrospective analysis from the MANAGE cohort in a Spanish hospital. *BMJ open* 2021;11:e045052.
80. Turan A, Cohen B, Rivas E, Liu L, Pu X, Maheshwari K, et al. Association between postoperative haemoglobin and myocardial injury after noncardiac surgery: a retrospective cohort analysis. *Br J Anaesthesiol* 2021;126:94-10.
81. Górka J, Polok K, Fronczek J, Górka K, Kózka M, Iwaszczuk P, et al. Myocardial injury is more common than deep venous thrombosis after vascular surgery and is associated with a high one year mortality risk. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2018;56:264-70.
82. Ackland GL, Abbott TEF, Jones TF, Leuwer M, Pearse RM; VISION-UK Investigators. Early elevation in plasma high-sensitivity troponin T and morbidity after elective noncardiac surgery: prospective multicentre observational cohort study. *Br J Anaesth* 2020;124:535-43.
83. Borg Caruana C, Jackson SM, Ngyuen Khuong J, Campbell R, Liu Z, Ramson DM, et al. Systematic review and meta-analysis of postoperative troponin as a predictor of mortality and major adverse cardiac events after vascular surgery. *J Vasc Surgery* 2020;72:1132-43.
84. Lowe MJ, Lighfoot NJ. The prognostic implication of perioperative cardiac enzyme elevation in patients with fractured neck of femur: A systematic review and meta-analysis. *Injury* 2020;51:164-73.
85. Moon YJ, Kwon HM, Jung KW, Kim KS, Shin WJ, Jun IG, et al. Preoperative high-sensitivity troponin I and B-type natriuretic peptide, alone and in combination, for risk stratification of mortality after liver transplantation. *Korean J Anesthesiol* 2021;74:242-53.



86. Kler A, Dave M, Blatzis M, Satyadas T. Elevation of high-sensitive Troponin T predicts mortality after open pancreaticoduodenectomy. *World J Surg* 2021;45:1913–20.
87. Clerico A, Zaninotto M, Aimo A, et al. Evaluation of the cardiovascular risk in patients undergoing major non-cardiac surgery: role of cardiac-specific biomarkers. A consensus document by the Inter-Society Study Group on Cardiac Biomarkers of the Italian Societies of Clinical Biochemistry: European Ligand Assay Society (ELAS), Italian section; Società Italiana di Biochimica Clinica e Biologia Molecolare Clinica (SIBioC); Società Italiana di Patologia Clinica e Medicina di Laboratorio (SIPMel). *Clin Chem Lab Med* 2022;60:1525–42.
88. López-Sendón J, Álvarez-Ortega C, Zamora Auñón P, et al. Classification, prevalence, and outcome of anticancer therapy-induced cardiotoxicity: the CARDIOTOX registry. *Eur Heart J* 2020;41:1720–9.
89. Chang HM, Moudgil R, Scarabelli T, Okwuosa TM, Yeh E. Cardiovascular complications of cancer therapy best practices in diagnosis, prevention, and management: part 1. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2536–51.
90. Chang HM, Okwuosa TM, Scarabelli T, Moudgil R, Yeh E. Cardiovascular complications of cancer therapy best practices in diagnosis, prevention, and management: part 2. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:2552–65.
91. Cardinale D, Colombo A, Lamantia G, et al. Anthracycline-induced cardiomyopathy. Clinical relevance and response to pharmacologic therapy. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:213–220.
92. Cardinale D, Colombo A, Bacchiani G, et al. Early detection of anthracycline cardiotoxicity and improvement with heart failure therapy. *Circulation* 2015;133:1981–8.
93. Zamorano JL, Lancellotti P, Rodriguez Munoz D, et al.; ESC Scientific Document Group. 2016 ESC Position Paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines. *Eur Heart J* 2016;37:2768–801.
94. Cardinale DM, Zaninotto M, Cipolla CM, Passino C, Plebani M, Clerico A. Cardiotoxic effects and myocardial injury: the search for a more precise definition of drug cardiotoxicity. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:51–7.
95. Cardinale D, Sandri MT, Colombo A, et al. Prognostic value of troponin I in cardiac risk stratification of cancer patients undergoing high-dose chemotherapy. *Circulation* 2004;109:2749–54
96. Cardinale D, Colombo A, Sandri MT, et al. Prevention of high-dose chemotherapy–induced cardiotoxicity in high-risk patients by Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition. *Circulation* 2006;114:2474–81.
97. Cao L, Zhu W, Wagar EA, Meng QH. Biomarkers for monitoring chemotherapy-induced cardiotoxicity. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2017;54:87–101.
98. Gülgün M, Fidancı K, Genç FA, Kesik V. Natriuretic peptide and cardiac troponin levels in doxorubicin-induced cardiotoxicity. [Anatol J Cardiol](#) 2016;16:299.
99. Cardinale D, Biasillo G, Salvatici M, Sandri MT, Cipolla CM. Using biomarkers to predict and to prevent cardiotoxicity of cancer therapy. *Expert Rev Mol Diagn* 2017;17:245–56.
100. Kitayama H, Kondo T, Sugiyama J, et al. High-sensitive troponin T assay can predict anthracycline and trastuzumab-induced cardiotoxicity in breast cancer patients. *Breast Cancer* 2017;24:774–82.
101. Jones M, O’Gorman P, Kelly C, Mahon N, Fitzgibbon MC. High-sensitive cardiac troponin-I facilitates timely detection of subclinical anthracycline-mediated cardiac injury. *Ann Clin Biochem* 2017;54:149–57.

102. Michel L, Rassaf T, Totzeck M. Biomarkers for the detection of apparent and subclinical cancer therapy-related cardiotoxicity. *J Thorac Dis* 2018;10(Suppl35):S4282-S4295.
103. Riddell E, Lenihan D. The role of cardiac biomarkers in cardio-oncology. *Curr Probl Cancer* 2018;42:375-85.
104. Sarocchi M, Arboscello E, Bellodi A, et al. Serial Troponin for early detection of Nivolumab cardiotoxicity in advanced non-small cell lung cancer patients. *Oncologist* 2018;23:936-42.
105. Simões R, Silva LM, Valle Mussi Cruz AL, et al. Troponin as a cardiotoxicity marker in breast cancer patients receiving anthracycline-based chemotherapy: A narrative review. *Biomed Pharmacother* 2018;107:989-96.
106. Sandoval Y, Sharin K, Saenger AK, Smith SW, Apple FS, Jaffe AS. Clinical use of cardiac troponin for acute cardiac care and emerging opportunities in the outpatients setting. *Minerva Med* 2019;110:139-56.
107. Cardinale D, Ciceri F, Latini R, et al. Anthracycline-induced cardiotoxicity: A multicenter randomised trial comparing two strategies for guiding prevention with enalapril: The International CardioOncology Society-one trial. *Eur J Cancer* 2018;94:126-37.
108. Clerico A, Cardinale DM, Zaninotto M, et al. High-sensitivity cardiac troponin I and T methods for the early detection of myocardial injury in patients on chemotherapy. *Clin Chem Lab Med* 2021;59:513-21.
109. Lyon AR, López-Fernández T, Couch LS, Asteggiano R, Aznar MC, Bergler-Klein J, et al. 2022 ESC Guidelines on cardio-oncology developed in collaboration with the European Hematology Association (EHA), the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology (ESTRO) and the International Cardio-Oncology Society (IC-OS). *Eur Heart J* 2022;43:4229-361
110. Herrmann J, Lenihan D, Armenian S, Barac A, Blaes A, Cardinale D, et al. Defining cardiovascular toxicities of cancer therapies: an International Cardio-Oncology Society (IC-OS) consensus statement. *Eur Heart J* 2022;43:280-99.
111. Clerico A, Zaninotto M, Dittadi R, et al. Caratteristiche analitiche e importanza clinica della variabilità delle troponine cardiache nei soggetti normali e nei pazienti con malattie cardiovascolari. *LigandAssay* 2022;27:103-24.
112. Bergami M, Scarpone M, Bugiardini R, Cenko E, Manfrini O. Sex beyond cardiovascular risk factors and clinical biomarkers of cardiovascular disease. *Rev Cardiovasc Med* 2022;23:019.
113. Perrone MA, Aimo A, Bernardini S, Clerico A. Inflammageing and cardiovascular system: Focus on cardiokines and cardiac-specific biomarkers. *Int J Biol Sci* 2023;24:844.
114. Cediël G, Codina P, Spitaleri G, et al. Gender-related differences in heart failure biomarkers. *Front Cardiovasc Med* 2021;7:617705.
115. McDonagh TA, Metra M, Adamo M et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure. *Eur Heart J* 2021, 42, 35993726.
116. Magnussen C, Niiranen TJ, Ojeda FM, et al. Sex-Specific epidemiology of heart failure risk and mortality in Europe: results from the BiomarCaRE consortium. *JACC Heart Fail* 2019;7:204–13.
117. Scantlebury DC, Borlaug BA. Why are women more likely than men to develop heart failure with preserved ejection fraction? *Curr Opin Cardiol* 2011;26:562–8.
118. Reue K, Wiese CB. Illuminating the mechanisms underlying sex differences in cardiovascular disease. *Circ Res* 2022;130:1747-62.
119. Cantonotti M, Clerico A, Giordano R, et al. Cardiac Troponin-T release after sport and differences by age, sex, training type, volume, and intensity: A critical review. *Clin J Sport Med* 2022;32:e230-40.
120. Shave R, George KP, Atkinson G, et al. Exercise-induced cardiac troponin T release: a meta-analysis. *Med Sci Sports Exerc.* 2007;39:2099–106.

121. Vilela EM, Bastos JC, Rodrigues RP, et al. High-sensitivity troponin after running—a systematic review. *Neth J Med*. 2014;72:5–9.
122. Cirer-Sastre R, Legaz-Arrese A, Corbi F, et al. Cardiac biomarker release after exercise in healthy children and adolescents: a systematic review and meta-analysis. *Pediatr Exerc Sci* 2019;31:28–36.
123. Baker P, Leckie T, Harrington D, et al. Exercise-induced cardiac troponin elevation: an update on the evidence, mechanism and implications. *Int J Cardiol Heart Vasc* 2019;22:181–186.
124. Lee IM, Skerrett PJ. Physical activity and all-cause mortality: what is the dose-response relation? *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33(Suppl. 6):S459–71.
125. Kohl HW. Physical activity and cardiovascular disease: evidence for a dose response. *Med. Sci. Sports Exerc* 2001; 33(Suppl. 6):S472–83.
126. Chin SH, Kahathuduwa CN, Binks M. Physical activity and obesity: what we know and what we need to know. *Obes Rev* 2016; 17:1226–44.
127. Hallal PC, Andersen LB, Bull FC, et al. Global physical activity levels: surveillance progress, pitfalls, and prospects. *Lancet* 2012; 380:247–57.
128. Lobelo F, Stoutenberg M, Hutber A. The exercise is medicine global health initiative: a 2014 update. *Br J Sports Med* 2014; 48:1627–33.
129. Henschel B, Gorczyca AM, Chomistek AK. Time spent sitting as an independent risk factor for cardiovascular disease. *Am J Lifestyle Med* 2017; 155982761772848: 204–15.
130. Thompson PD, Eijvogels TMH. New physical activity guidelines: a call to activity for clinicians and patients. *JAMA* 2018; 320:1983–4.
131. Shrestha N, Kukkonen-Harjula KT, Verbeek JH, et al. Workplace interventions for reducing sitting at work. *Cochrane Database Syst Rev* 2018; 2018.
132. Bull FC, Al-Ansari SS, Biddle S, et al. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *Br J Sports Med* 2020;54:1451-62.
133. Tiller NB, Stewart GM, Illidi CM, Levine BD. Exercise is medicine? The cardiorespiratory implications of ultra-marathon. *Curr Sports Med Rep* 2020;19:290-7.
134. Izquierdo M, Merchant RA, Morley JE, et al. International exercise recommendations in older adults (ICFSR): Expert Consensus Guidelines. *J Nutr Health Aging* 2022;25:824-53.
135. Hanssen H, Boardman H, Deiseroth A, et al. Personalized exercise prescription in the prevention and treatment of arterial hypertension: a Consensus Document from the European Association of Preventive Cardiology (EAPC) and the ESC Council on Hypertension. *Eur J Prev Cardiol* 2022;29:205-15.
136. Pelliccia A, Solberg EE, Papadakis M, et al. Recommendations for participation in competitive and leisure time sport in athletes with cardiomyopathies, myocarditis, and pericarditis: position statement of the Sport Cardiology Section of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *Eur Heart J* 2019;40:19-33.
137. Willeit P, Welsh P, Evans JDW, et al. High-sensitivity cardiac troponin concentration and risk of first-ever cardiovascular outcomes in 154,052 participants. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:558-68.
138. Lam CSP, Castillo R, Ho Dt, et al. High-sensitivity troponin I for cardiovascular risk stratification in the general asymptomatic population: Perspectives from Asia-Pacific. *Int J Cardiol* 2019;282:93-8.
139. Broersen LHA, Stengl H, Nolte CH, et al. Association between high-sensitivity cardiac troponin and risk of stroke in 96 702 individuals: A meta-analysis. *Stroke* 2020;51:1085-93.
140. Raber I, McCarthy CP, Januzzi JL. A test in context: Interpretation of high-sensitivity cardiac troponin assays in different clinical settings. *J Am Coll Cardiol* 2021;77:1357-67.
141. Sze J, Mooney J, Barzi F, Hillis GS, Chow CK. Cardiac troponin and its relationship to cardiovascular outcomes in community populations - A systematic review and meta-analysis. *Heart Lung Circ* 2016;25:217-28.

142. Van der Lindel N, Klinkenberg LJJ, Bekers O, Loon LJC, Dieijen-Visser MPV, Zeegers MP, et al. Prognostic value of basal high-sensitive cardiac troponin levels on mortality in the general population: a meta-analysis. *Medicine* 2016;95:e5703.
143. Willeit P, Welsh P, Evans JDW, Tschiderer L, Boachie C, Jukema JW, et al. High-sensitivity cardiac troponin concentration and risk of first-ever cardiovascular outcomes in 154,052 participants. *J Am Coll Cardiol* 2017;70:558-68.
144. Hughes MF, Ojeda F, Saarela O, et al. Association of repeatedly measured high-sensitivity-assayed troponin I with cardiovascular disease events in a general population from the MORGAM/BiomarCaRE Study. *Clin Chem* 2017;63:334-42.
145. Sigurdardottir FD, Lynbakken MN, Holmen OL, Dalen H, Hveem K, Røsjø H, Omland T. Relative prognostic value of cardiac troponin I and C-reactive protein in the general population (from the North-Trøndelag Health [HUNT] Study). *Am J Cardiol* 2018;121:949-55.
146. Welsh P, Preiss D, Shah ASV, et al. Comparison between high-sensitivity cardiac troponin T and cardiac troponin I in a large general population cohort. *Clin Chem* 2018;64:1607-16.
147. Lippi G, Cervellin G, Sanchis-Gomar F. Predicting mortality with cardiac troponins: recent insights from meta-analyses. *Diagnosis* 2019;8:37-49.
148. Aimo A, Georgiopoulos G, Panichella G, et al. High-sensitivity troponins for outcome prediction in the general population: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Intern Med* 2022;98:61-8.
149. Gresslien T, Agewall S. Troponin and exercise. *Int J Cardiol* 2016;609-21.