



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

2014/2015

Jonatas Isaac Barbosa Garcez
Lesão de isquemia e reperfusão do
miocárdio

março, 2015

FMUP



FACULDADE DE MEDICINA
UNIVERSIDADE DO PORTO

Jonatas Isaac Barbosa Garcez
Lesão de isquemia e reperfusão do
miocárdio

Mestrado Integrado em Medicina

Área: Cardiologia
Tipologia: Monografia

Trabalho efetuado sob a Orientação de:
Doutor Manuel Joaquim Lopes Vaz da Silva

Trabalho organizado de acordo com as normas da revista:
Revista Portuguesa de Cardiologia

março, 2015

FMUP

Eu, Jonatas Isaac Barbosa Garcez, abaixo assinado, nº mecanográfico 200908271, estudante do 6º ano do Ciclo de Estudos Integrado em Medicina, na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste projeto de opção.

Neste sentido, confirmo que **NÃO** incorri em plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria de um determinado trabalho intelectual, ou partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores, foram referenciadas, ou redigidas com novas palavras, tendo colocado, neste caso, a citação da fonte bibliográfica.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Jonatas Garcez

Projecto de Opção do 6º ano – DECLARAÇÃO DE REPRODUÇÃO

NOME

Jonatas Isaac Barbosa Garcez

CARTÃO DE CIDADÃO OU PASSAPORTE (se estrangeiro)

E-MAIL

TELEFONE OU TELEMÓVEL

13887945

mimed09069@med.up.pt

+351919075745

NÚMERO DE ESTUDANTE

DATA DE CONCLUSÃO

200908271

23-03-2015

DESIGNAÇÃO DA ÁREA DO PROJECTO

Cardiologia

TÍTULO ~~DISSERTAÇÃO~~/MONOGRAFIA (riscar o que não interessa)

Lesão de isquemia e perfusão do miocárdio

ORIENTADOR

Doutor Manuel Joaquim Lopes Vaz da Silva

COORIENTADOR (se aplicável)

É autorizada a reprodução integral desta ~~Dissertação~~/Monografia (riscar o que não interessa) para efeitos de investigação e de divulgação pedagógica, em programas e projectos coordenados pela FMUP.

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, 23/03/2015

Assinatura conforme cartão de identificação:

Jonatas Garcez

Aos meus pais.

Título: Lesão de isquemia e reperfusão do miocárdio
Myocardial ischemia and reperfusion injury

Nome: Jonatas Isaac Barbosa Garcez

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

Al. Prof. Hernâni Monteiro CP- 4200-319 Porto

Contacto: mimed09069@med.up.pt

Resumo

As síndromes coronárias agudas representam um grande desafio para doentes e serviços de saúde, sendo responsáveis por elevada morbidade e mortalidade. O seu tratamento tem como objetivo, sobretudo, limitar a lesão isquémica, sendo que, a reperfusão precoce, quando indicada, é a mais importante arma na abordagem aos casos mais graves de doença.

A lesão de reperfusão do miocárdio é uma lesão que apenas acontece após a reperfusão. Uma das formas desta lesão, causadora de morte celular, pode ser responsável por cerca de 50% do tamanho final de um enfarte, representando um alvo terapêutico promissor, até agora negligenciado.

São revistos alguns dos principais mecanismos fisiopatológicos de lesão de reperfusão do miocárdio, com destaque para o papel da transição da permeabilidade mitocondrial, assim como as mais promissoras intervenções clínicas investigadas até à data, incluindo o pós-condicionamento isquémico, o condicionamento isquémico remoto, a hipotermia terapêutica e intervenções farmacológicas: ciclosporina A, adenosina, exenatide e peptídeo natriurético auricular.

Palavras-chave: Lesão de reperfusão do miocárdio; Poro de transição da permeabilidade mitocondrial; Pré-condicionamento isquémico; Pós-condicionamento isquémico; Condicionamento isquémico remoto

Abstract

Acute Coronary Syndromes represent a great challenge for both patients and Health Care Providers, with high morbidity and mortality rates. Their treatment focuses on limiting the ischemic injury, with early reperfusion being, when advised, the most important tool in the approach to the most serious forms of disease.

Myocardial reperfusion injury is a particular kind of injury, which only happens after reperfusion. This injury can present in many ways, including cell death, and be responsible for as much as 50% of the final infarct size. So far, it has been a neglected and promising therapeutic target.

In this review the pathophysiological mechanisms of myocardial reperfusion injury are considered, with focus on the role of the mitochondrial permeability transition. Furthermore, the most promising therapeutic approaches to date are reviewed, including ischemic post-conditioning, remote ischemic conditioning, therapeutic hypothermia, and drugs: cyclosporine A, adenosine, exenatide and atrial natriuretic peptide.

Key-words: Myocardial reperfusion injury; Mitochondrial permeability transition pore; Ischemic preconditioning; Ischemic postconditioning; Remote ischemic conditioning;

Lista de abreviaturas	
ANP:	Peptídeo natriurético auricular
CI:	Condicionamento isquémico
CIR:	Condicionamento isquémico remoto
CK:	Cínase de creatina
DDP4	Dipeptidil peptídase subtipo 4
DM2:	Diabetes Mellitus tipo 2
EAM:	Enfarte agudo do miocárdio
EAMCSST:	Enfarte agudo do miocárdio com supra-desnívelamento de ST
GLP1:	Peptídeo tipo-glicogénio 1
GLP1-R:	Recetor do GLP1
ICP:	Intervenção coronária percutânea
IR:	Isquemia-reperfusão
LRM:	Lesão de reperfusão do miocárdio
NO:	Óxido nítrico
OMV	Obstrução microvascular
PKC	Proteína cínase C
PKG	Proteína cínase G
Pós-CI	Pós-condicionamento isquémico
Pré-CI	Pré-condicionamento isquémico
PTPM	Poros de transição da permeabilidade mitocondrial
RISK	<i>Reperfusion injury signalling kinase</i>
SAFE	<i>Survival activating factor enhancement</i>
SCA	Síndromes coronárias agudas

Abbreviations list	
ANP:	Atrial natriuretic peptide
CI:	Ischemic conditioning
CIR:	Remote ischemic conditioning
CK:	Creatine kinase
DDP4	Dipeptidyl peptidase 4
DM2:	Diabetes Mellitus type 2
EAM:	Acute myocardial infarct
EAMCSST:	ST elevation acute myocardial infarct
GLP1:	Glucagon-like peptide-1
GLP1-R:	GLP1 receptor
ICP:	Percutaneous coronary intervention
IR:	Ischemia-reperfusion
LRM:	Myocardial reperfusion injury
NO:	Nitrous oxide
OMV	Microvascular obstruction
PKC	Protein kinase C
PKG	Protein kinase G
Pós-CI	Ischemic postconditioning
Pré-CI	Ischemic preconditioning
PTPM	Mitochondrial permeability transition pore
RISK	Reperfusion injury signalling kinase
SAFE	Survival activating factor enhancement
SCA	Acute coronary syndromes

Lista de figuras

Figura 1 – Ritmo idioventricular acelerado.

Figura 2 – Fisiopatologia das lesões de isquemia-reperfusão do miocárdio e potenciais alvos terapêuticos.

Figura 3 – Estrutura do poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM).

Figura 4 – Papel central do poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM) na morte celular mediada pela mitocôndria (necrose e apoptose), durante a reperfusão.

Figura 5 – Alterações no cardiomiócito durante a isquemia-reperfusão.

Figura 6 – Proporção de morte da área de miocárdio em risco atribuível à isquemia e a lesão de reperfusão do miocárdio (LRM) em função do tempo, em horas (h).

Figura 7 – Intervenções terapêuticas dirigidas a mecanismos lesionais envolvidos na LRM.

Figura 8 – *Forrest-plot* da diferença no tamanho de enfarte nos ensaios clínicos incluídos nesta meta-análise.

Figura 9 – *Forrest-plot* da diferença no tamanho de enfarte(TE) nos ensaios clínicos que não utilizaram a Ressonância Magnética(RM) como método de estimativa, em cima. Diferença no TE nos ensaios clínicos que utilizaram a RM como método de estimativa, em baixo.

Lista de tabelas

Tabela 1 – Características dos ensaios clínicos incluídos na meta-análise de *Favaretto et al.*

Tabela 2 – Fármacos que inibem o PTPM indiretamente.

Tabela 3 – Fármacos que inibem o PTPM diretamente.

Tabela 4 – Ensaios clínicos que testaram a Adenosina na LRM.

Tabela 5 – Ensaios clínicos que testaram o GLP1 na LRM.

Tabela 6 – Ensaios clínicos que testaram o exenatide na LRM.

Introdução

As síndromes coronárias agudas (SCA) representam um grande desafio para doentes e serviços de saúde, sendo responsáveis por elevada morbilidade e mortalidade.

O enfarte agudo do miocárdio (EAM) é uma das principais causas de morte em todo o mundo, particularmente nos países ocidentais, e uma das principais causas de insuficiência cardíaca. Aproximadamente 17 milhões de pessoas por ano, em todo o mundo, têm um EAM, 40% dos quais com supradesnivelamento do segmento ST (presumivelmente devidos a oclusão de uma artéria coronária)¹.

O Registo Nacional Português de Síndromes Coronárias Agudas, reunindo um total de 22482 doentes, com uma média de idades de 66 anos, no período de 1 de Janeiro de 2002 a 31 de Dezembro de 2008, documentou que 44,2% dos doentes tiveram EAM com supradesnivelamento de ST (EAMCSST), 44,8% EAM sem supradesnivelamento de ST e 9,1% angina instável².

A abordagem às SCA evoluiu muito nas últimas décadas com grandes avanços nos métodos de restabelecimento de fluxo coronário. O tratamento de EAMCSST assenta na terapêutica de reperfusão miocárdica, primariamente na intervenção coronária percutânea (ICP) (angioplastia e implantação de *stent*) e/ou na realização de trombólise. Mesmo assim, a morbilidade e a mortalidade do EAMCSST permanecem elevadas.

A reperfusão precoce é essencial para limitar a extensão de um enfarte³. No entanto, a lesão miocárdica resultante de um processo de isquemia é composta por processos fisiopatologicamente distintos, que não dependem exclusivamente da ausência de fluxo⁴. Parte significativa da morbi-mortalidade associada ao EAMCSST pode ter a ver com a designada lesão de reperfusão do miocárdio (LRM).

A LRM é desencadeada no momento do restabelecimento de fluxo coronário, e pode apresentar-se de formas distintas⁵, como, por exemplo, arritmias e morte celular. Esta última,

a LRM que causa morte celular (“lesão letal de reperfusão”), surge agora como um componente relevante da lesão final produzida por SCA e seus tratamentos, podendo representar até cerca de 50% do tamanho de um EAM⁶. O conhecimento dos seus mecanismos fisiopatológicos pode revelar novos alvos terapêuticos que permitam a salvação de uma maior fracção de miocárdio, reduzindo, dessa forma, o processo de remodelagem ventricular, a incidência de insuficiência cardíaca pós enfarte e a mortalidade daí decorrente.

A presente revisão propõe-se a abordar os mais importantes mecanismos fisiopatológicos envolvidos na LRM, assim como as novas intervenções terapêuticas que têm sido consideradas.

Métodos de pesquisa bibliográfica

A pesquisa bibliográfica foi efectuada nas bases de dados *Pubmed*, *Web of Science* e *Scopus*, sem restrições de data, com os termos de pesquisa (“Myocardial reperfusion injury” OR “mitochondrial permeability transition pore”). Foram seleccionados artigos escritos em inglês após leitura do respectivo *abstract*. Outros artigos foram depois acrescentados a partir das listas de referências de estudos incluídos na revisão. Não houve qualquer restrição sobre o tipo de estudos.

Lesão de isquemia-reperfusão

Os eventos clínicos mais relevantes relacionados com o fenómeno de isquemia-reperfusão (IR) são: arritmias, nomeadamente o ritmo idioventricular acelerado (figura 1); *stunning* miocárdico; obstrução microvascular (OMV); e morte miocárdica (necrose e apoptose). Estas duas últimas consequências estão particularmente correlacionadas com o tamanho do enfarte e a gravidade da disfunção ventricular⁷. A OMV caracteriza-se por provocar a morte de células endoteliais e cardiomiócitos por compressão extrínseca causada

através de edema, microembolização de material friável de placa de ateroma, e infiltração por várias células inflamatórias. A presença de OMV (estimada por ressonância magnética), associa-se a um pior prognóstico a curto e longo prazo⁵. A necrose miocárdica associada à IR causa uma lesão maior do que o esperado com perda de cardiomiócitos e função do ventrículo afetado. Por tudo isto, as designadas medidas terapêuticas de cardioproteção (controle ou diminuição deste fenómeno de IR) têm sido perseguidas avidamente.

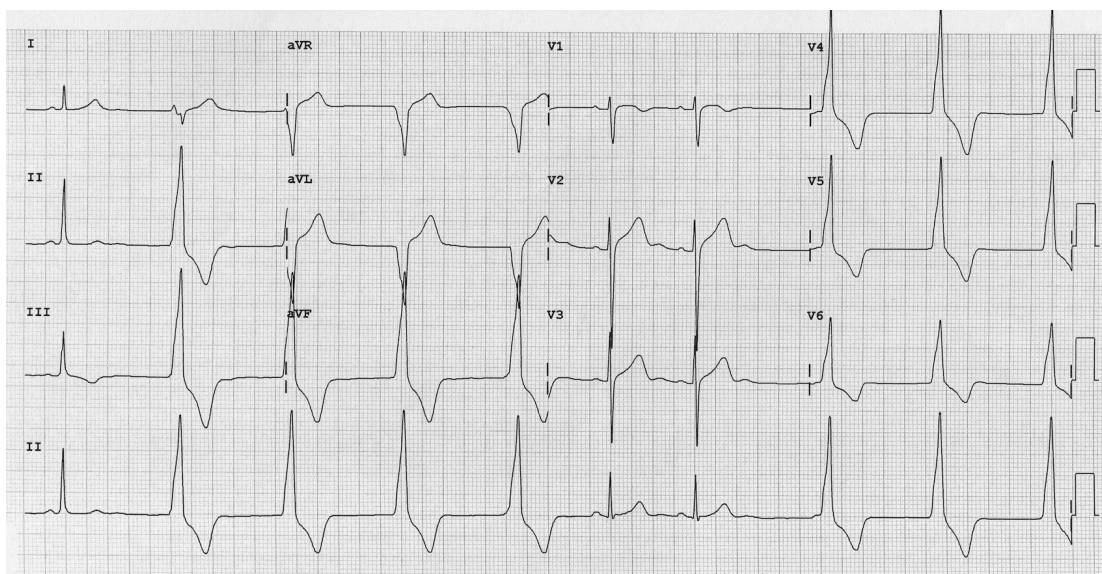


Figura 1 - Ritmo idioventricular acelerado.

Retirado de: <http://cdn.lifeinthefastlane.com/wp-content/uploads/2012/01/AIVR11.jpg>

O miocárdio requer uma grande quantidade de energia para executar as suas funções. O seu metabolismo depende sobretudo de ácidos gordos livres e glicose, em aerobiose, e ainda de lactatos, cetonas, amino-ácidos e piruvato. Num processo isquémico, o miocárdio privilegia vias metabólicas anaeróbias, comprometendo a sua função.

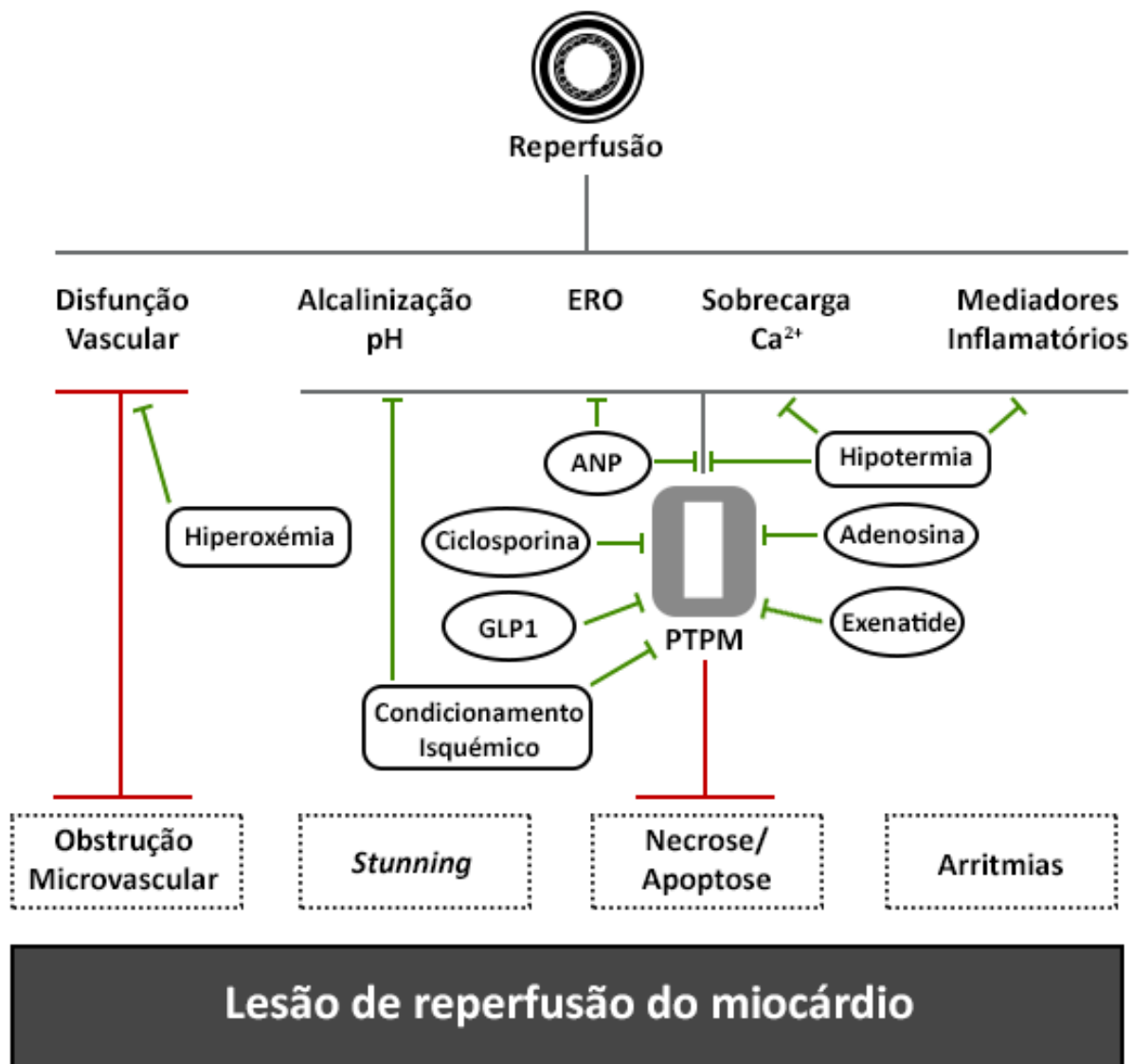


Figura 2 – Fisiopatologia das lesões de isquemia-reperfusão do miocárdio e potenciais alvos terapêuticos. Espécies reativas de oxigênio (ERO); Peptídeo natriurético auricular (ANP); Poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM).

As alterações verificadas no cardiomiócito durante a isquemia incluem: diminuição da concentração intracelular de ATP, aumento da concentração de Ca²⁺, Na⁺ e lactatos, com diminuição do pH⁸. Estas alterações são, até certo grau, protetoras durante o período isquêmico, e estão inter-relacionadas⁹: o metabolismo anaeróbico que se inicia por déficit de oxigênio causa uma diminuição das concentrações de ATP e um aumento das concentrações de lactatos, com consequente diminuição do pH. Em resposta ao pH ácido, o cardiomiócito

tenta remover H^+ através do trocador Na^+/H^+ , acumulando-se Na^+ no seu interior. O transporte de Ca^{2+} dependente de ATP também fica comprometido, acumulando-se no citosol.

A reperfusão precoce é essencial para limitar a lesão isquêmica³. Porém, expõe o miocárdio a outros tipos de agressões, que produzem lesão adicional. Isto pode ser explicado pela resposta do cardiomiócito à reperfusão, dependente da interação entre as alterações no meio extracelular durante a reperfusão e as alterações que se instalaram no meio intracelular durante a isquemia. Um dos efeitos imediatos da reperfusão é a alcalinização do pH extracelular, instalando-se um gradiente ácido-base. Isto aumenta as trocas Na^+/H^+ contribuindo para acumulação adicional de Na^+ intracelular¹⁰. Por sua vez, o Na^+ em excesso leva o trocador Na^+/Ca^{2+} a iniciar atividade inversa, provocando um pico precoce de Ca^{2+} intracelular após a reperfusão¹⁰, enquanto os mecanismos de eliminação de Ca^{2+} dependentes de ATP não conseguem fazer face ao seu excesso, nesta fase⁹. Para além disso, embora o aporte de nutrientes e oxigénio permita a recuperação do metabolismo aeróbio e da concentração de ATP, resulta também na produção de espécies reativas de oxigénio (ERO)¹¹, que produzem lesão por múltiplos mecanismos. A alcalinização do pH, a sobrecarga de Ca^{2+} , o pico de ERO e outras alterações do meio envolvente, como a produção de mediadores inflamatórios, promovem a abertura do poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM)^{7, 12-14}. Todos estes processos associam-se, resultando em LRM (figura 2).

É da sequência de processos biológicos e fisiopatológicos descritos que se procede a uma revisão mais detalhada nos tópicos seguintes, que abordam os potenciais interlocutores da LRM.

Balanço Oxidação-Redução

Uma das consequências imediatas da reativação da cadeia oxidativa é a produção de ERO¹¹, como, por exemplo, o anião radical superóxido ($O_2^{\bullet}$), o peróxido de hidrogénio (H_2O_2), o radical hidroxilo ($HO^{\bullet}$) e o peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$).

A associação das ERO a diversas alterações com impacto cardiovascular, nomeadamente hipertensão arterial, aterosclerose, e outros tipos de lesão que culminam em insuficiência cardíaca é, há muito, debatida¹⁵. Por esse motivo, foi feito um grande esforço na investigação de medidas terapêuticas que reduzissem a ação destas moléculas. Os resultados desapontantes podem dever-se a vários factores, contudo, as hipóteses mais recentes apontam para as ERO como elementos de um balanço oxidação-redução complexo, que tanto pode ser responsável por morte celular, como por sobrevivência¹⁶, pelo que a sua inibição pode falhar por excesso.

As ERO, para além de produzirem lesão direta através de alteração de DNA, proteínas e lípidos, na reperfusão, originam lesão através de mecanismos de sinalização celular que culminam na abertura do PTPM¹⁷. O pico das concentrações intracelulares de ERO que se verifica pós-reperfusão, associa-se a outros estímulos, como o excesso de Ca^{2+} e a recuperação súbita do pH, abrindo o PTPM (figuras 2-4). Para além disso, as ERO contribuem diretamente para as anomalias na homeostasia de Ca^{2+} e inativam o óxido nítrico (NO), produzindo disfunção endotelial, vasoconstrição, ativação de células inflamatórias e outras alterações que resultam em morte celular e em fenómenos de *no-reflow*. Estes fenómenos, atribuídos a lesão microvascular, são frequentemente identificados após terapêutica de reperfusão, e correspondem a perfusão incompleta ou heterogénea de áreas do miocárdio supridas por uma artéria repermeabilizada. Leucócitos polimorfonucleares depositam-se originando OMV, e produzem uma grande quantidade de ERO, que provocam

disfunção do endotélio. De facto, a utilização das enzimas superóxido dismutase e catalase, que inativam ERO, demonstrou a redução do fenómeno de *no-reflow*¹⁸.

Varição do pH

O pH ácido que se instala durante a isquemia é incompatível com o funcionamento normal do músculo cardíaco, mas é protetor para o miocárdio afetado, limitando a atividade de proteases (como a calpaína), a hipercontractura e a abertura do PTPM⁹.

No momento da reperfusão o pH extracelular é rapidamente corrigido. Isto desencadeia um conjunto de trocas transmembranares que culminam na entrada de Ca^{2+} para o meio intracelular (figura 5): com a alcalinização do pH extracelular o H^+ , que se encontrava em excesso no interior da célula, move-se para o meio extracelular através do trocador Na^+/H^+ ¹⁰. Por sua vez, o Na^+ acumulado é exteriorizado pelo trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ¹⁰. Todo este processo contribui para o excesso de Ca^{2+} intracelular pós-reperfusão e para as consequências deletérias que o Ca^{2+} tem na LRM, que serão descritas de seguida. Para além disso, o pH fisiológico favorece os mecanismos de morte celular mediados pelo PTPM, uma vez que é mais propício à sua abertura¹².

Sobrecarga de cálcio

O miocárdio isquémico acumula Ca^{2+} por diferentes vias: a diminuição do pH intracelular, através da ação do trocador Na^+/H^+ , resulta num aumento de concentração de Na^+ intracelular¹⁹. Como consequência, o trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$, cujo sentido da atividade é dependente do gradiente de concentração de Na^+ , inicia atividade inversa à verificada em condições fisiológicas, passando a exteriorizar Na^+ e a internalizar Ca^{2+} ²⁰. Para além disto, a depleção de ATP condiciona o funcionamento de trifosfatases, contribuindo para estes desequilíbrios ao inativar a ATPase Na^+/K^+ , a SERCA e a ATPase de Ca^{2+} sarcoplasmática⁹.

O excesso de Ca^{2+} não é corrigido com a reperfusão, mas agravado. Nos primeiros momentos após a reperfusão há um restabelecimento súbito do pH extracelular, o que exagera os movimentos iônicos acima referidos, com destaque para a ativação do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ no sentido inverso²¹, produzindo um pico de Ca^{2+} intracelular. O pH fisiológico facilita as ações deletérias do Ca^{2+} na reperfusão, criando um ambiente mais favorável à abertura do PTPM¹², e a outras vias lesionais dependentes de Ca^{2+} (figura 4,5), como a hipercontractura²¹, que causa morte celular ao provocar a rotura do sarcolema, e a proteólise mediada pela calpaína, que provoca alterações estruturais e induz vias de sinalização que perpetuam desequilíbrios na homeostasia celular e levam à apoptose.

Poro de transição da permeabilidade mitocondrial

O PTPM é uma entidade funcional cuja identidade molecular exata permanece desconhecida²². Nas figuras 3 e 4 pode ver-se a proposta de estrutura do PTPM, os seus componentes conhecidos, possíveis alvos de ligação com proveitos terapêuticos e a participação da sua abertura nos processos de morte celular. O seu papel fisiológico estará relacionado com a homeostasia do cálcio²³, mas estruturalmente representa um poro que, quando formado, estende-se entre as membranas mitocondriais e permite a circulação de moléculas com menos de 1,5 kDa entre a matriz mitocondrial e o citosol²⁴.

A grande necessidade energética do miocárdio faz com que as mitocôndrias sejam um organelo proeminente nos cardiomiócitos, ocupando até 30% do volume celular e desempenhando um papel central na sua função⁷. A atividade das mitocôndrias é de tal forma importante no funcionamento celular, que participam ativamente quer na sobrevivência, quer na morte celular, respondendo dinamicamente a múltiplos estímulos. Esses estímulos, responsáveis por vias de necrose e apoptose intrínseca e extrínseca, incluem a concentração

intracelular de Ca^{2+} e ERO, o pH intracelular, a depleção de nutrientes, a presença de toxinas e as interações $\text{TNF-}\alpha/\text{TNFR1}$ e Fas/Fas-ligando²⁵.

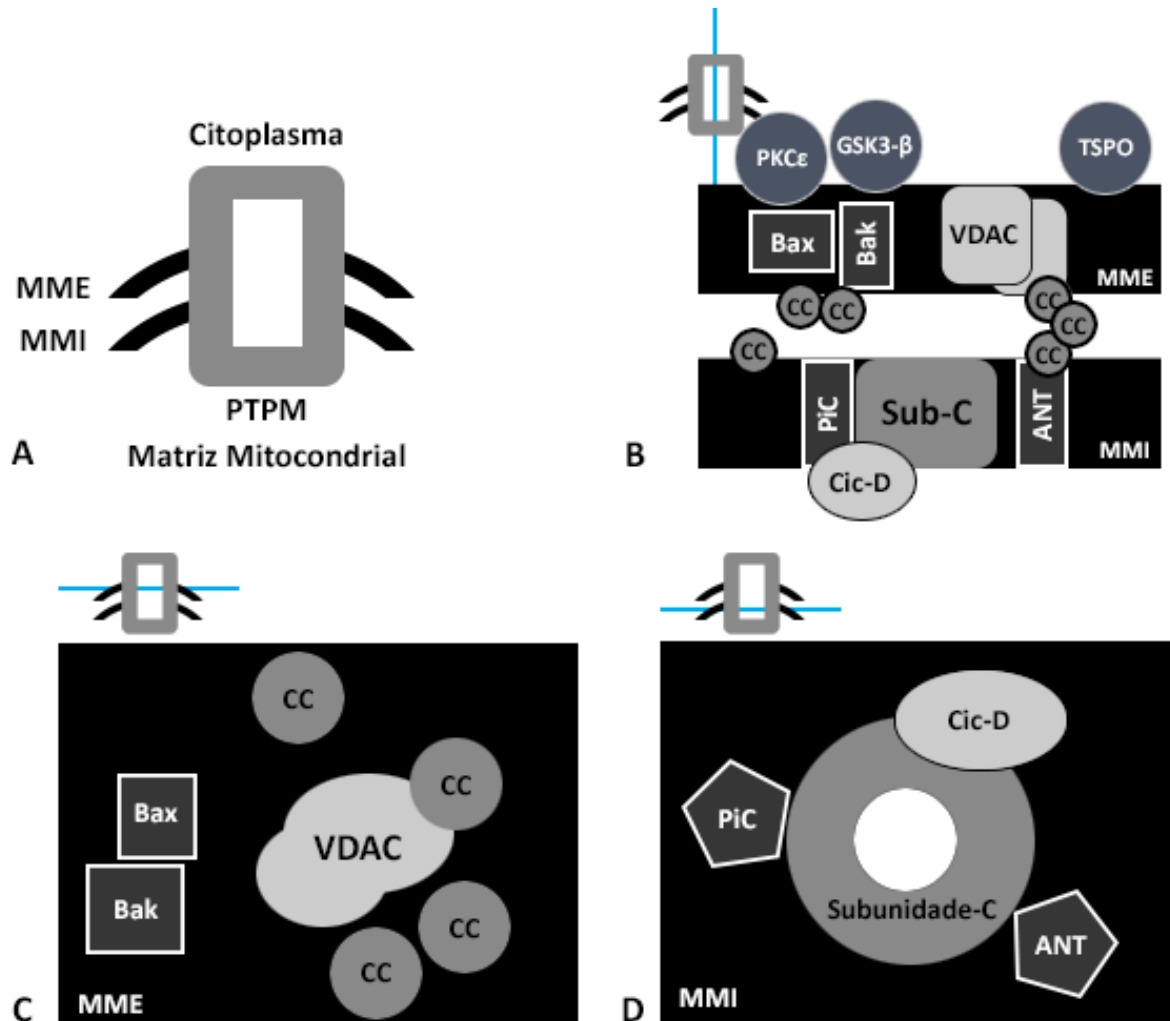


Figura 3 – Estrutura do Poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM), baseada na proposta de Morciano et al.⁷. A. Representação de referência do PTPM; B. Detalhe da microestrutura de A; C. Detalhe da microestrutura do PTPM na membrana mitocondrial externa (MME); D. Detalhe da microestrutura do PTPM na membrana mitocondrial interna (MMI). O poro forma-se ao nível da MMI, sendo composto sobretudo por elementos da síntese de ATP, nomeadamente a Subunidade-C (Sub-C), que constitui o poro propriamente dito, o transportador de nucleotídeos de adenina (ANT) e o transportador de fosfato inorgânico (PiC). Estes elementos interagem com a Ciclofilina-D (Cic-D), um dos reguladores do PTPM e importante alvo terapêutico. O poro estende-se até à MME através de ligações ao canal de aniões dependente de voltagem (VDAC), aos elementos da família Bcl-2, Bax e Bak, e a oligômeros da Cínase de Creatina (CC). Outros elementos reguladores acompanham o complexo e podem ser alvos terapêuticos, como é o caso da cínase de proteínas C épsilon (PKCε) (envolvida na via RISK) e da cinase da síntese de glicogénio (GSK3-β). O translocador de proteínas mitocondrial (TSPO) também regula a atividade do PTPM, mas o seu potencial terapêutico é aparentemente limitado.

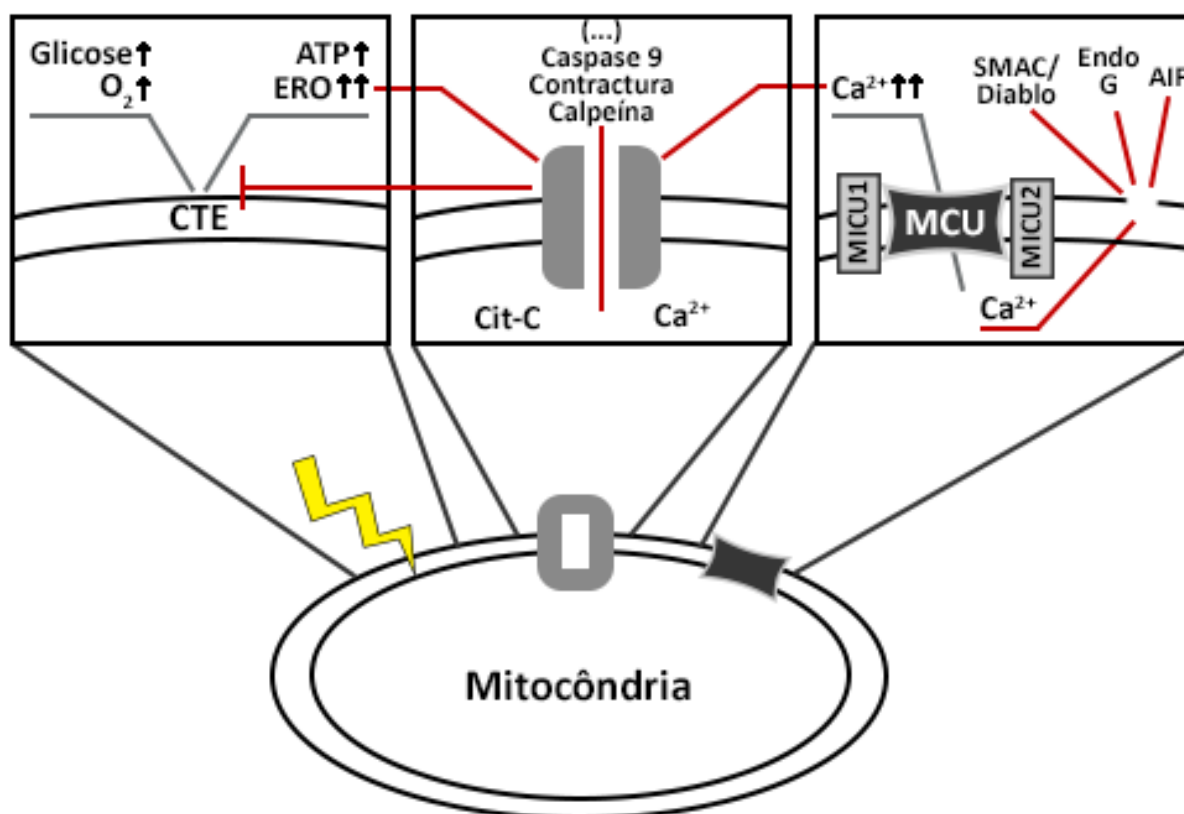


Figura 4 – Papel central do poro de transição da permeabilidade mitocondrial (PTPM) na morte celular mediada pela mitocôndria (necrose e apoptose), durante a reperfusão. Esquerda: a reperfusão permite o funcionamento da cadeia de transporte de electrões (CTE), produzindo-se, para além de fosfatos de alta energia (ATP), espécies reativas de oxigénio (ERO). Centro: a abertura do PTPM é estimulada pelos níveis de Ca^{2+} e ERO durante a reperfusão, causando necrose por excesso adicional de Ca^{2+} e dissociação da cadeia oxidativa, e apoptose por libertação do citocromo-C (Cit-C) para o citoplasma. Direita: o Ca^{2+} em excesso entra para a mitocôndria através do uniporter de cálcio mitocondrial (MCU), e estimula a libertação de fatores apoptóticos (SMAC/Diablo, Endonuclease G (Endo G), factor indutor de apoptose (AIF)) através da membrana mitocondrial externa.

Na LRM a mitocôndria, sobretudo por ação do PTPM, parece ocupar um papel central (figura 4). A sua abertura, embora possa ocorrer durante o período de isquemia, acontece sobretudo durante a reperfusão²⁶, e causa morte celular por necrose e apoptose²⁷, com dissociação da fosforilação oxidativa²⁵, libertação de Ca^{2+} para o citoplasma²⁸ e rotura da membrana mitocondrial externa. Dependendo da intensidade dos estímulos, a apoptose por libertação do citocromo-C pode ser despoletada¹³.

Acredita-se que alguns dos principais estímulos para a abertura do PTPM na reperfusão miocárdica sejam a alcalinização do pH¹², a sobrecarga de Ca^{2+14} e a atividade de ERO¹³. A estes associam-se o alto teor em fosfato intracelular e a depleção de nucleosídeos de adenina⁷. Estes estímulos têm um comportamento próprio nos momentos iniciais da

reperfusão e constituem alvos de cardioproteção que têm sido amplamente investigados. Entende-se agora que muitas intervenções com resultados positivos, ao nível desses alvos, poderão ter como efector final o PTPM. Por esse motivo, o PTPM tem sido alvo de muita atenção como o mais promissor alvo de cardioproteção. Na figura 5 pode ver-se em maior detalhe as alterações biológicas implicadas na lesão de IR miocárdica.

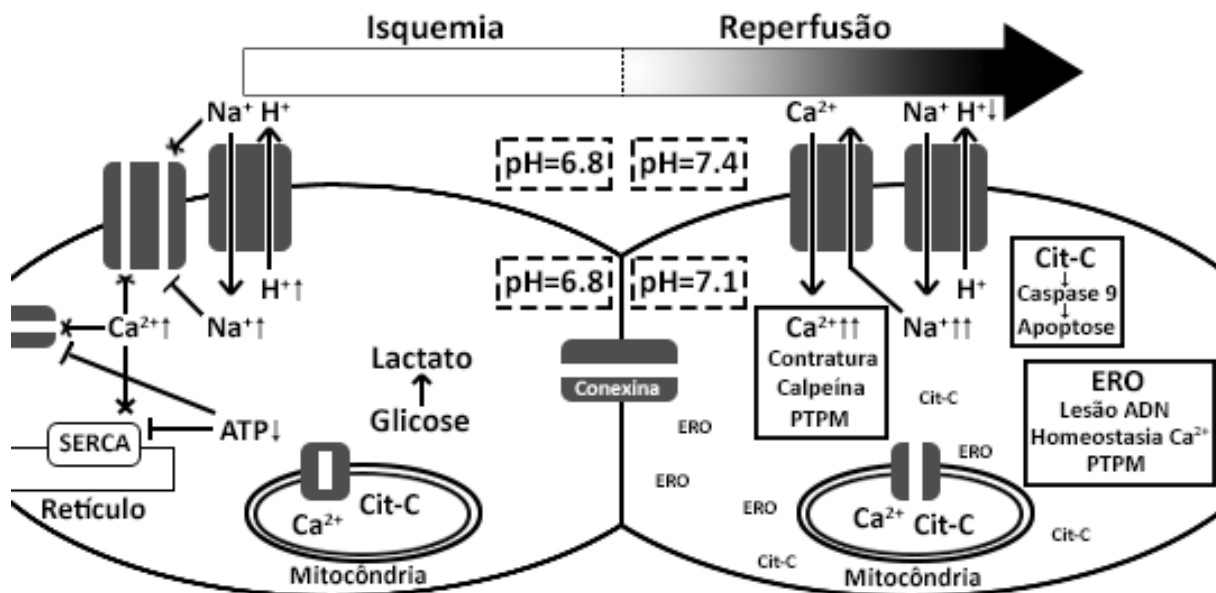


Figura 5 - Alterações no cardiomiócito durante a isquemia-reperfusão. À esquerda: o cardiomiócito acumula Ca^{2+} (SERCA e ATPase de Ca^{2+} inativas; trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ inibido) secundariamente à depleção de ATP e acumulação de Na^+ (acidose). À direita: pH extracelular corrigido por *wash-out*, trocador Na^+/H^+ aumenta atividade o que motiva ativação do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ no sentido inverso. Abertura do PTPM e algumas consequências da sobrecarga de Ca^{2+} e da presença do citocromo-C e de espécies reativas de oxigênio (ERO) no cardiomiócito.

Intervenções terapêuticas

Preparar a reperfusão

Desde que se verificou que a LRM, para além de outras complicações, aumenta a área de enfarte, várias investigações foram dirigidas à possibilidade de a diminuir. De um modo geral, existem duas formas de diminuí-la: através de intervenções mecânicas ou farmacológicas.

Na figura 7 estão patentes várias hipóteses terapêuticas testadas para fazer face à LRM. Outras hipóteses serão apresentadas nos capítulos que se seguem. No entanto, é muito importante referir que a LRM dispõe de uma janela terapêutica própria, dependente do tempo decorrido entre o início dos sintomas e a terapêutica de reperfusão²⁹. Isto acontece, porque as alterações associadas à isquemia são o ponto de partida para os mecanismos lesionais que se colocam em marcha após a reperfusão (figura 5). Desse modo, a duração da isquemia afeta o grau de LRM que se pode desenvolver e, consequentemente, a eficácia das medidas de cardioproteção. Esta relação pode ser observada em maior detalhe na figura 6.

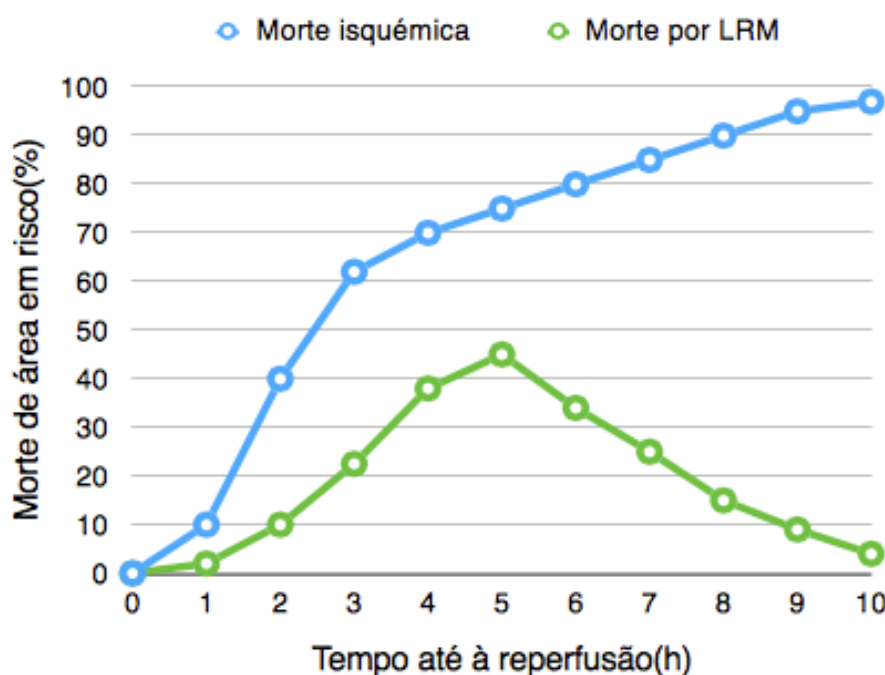
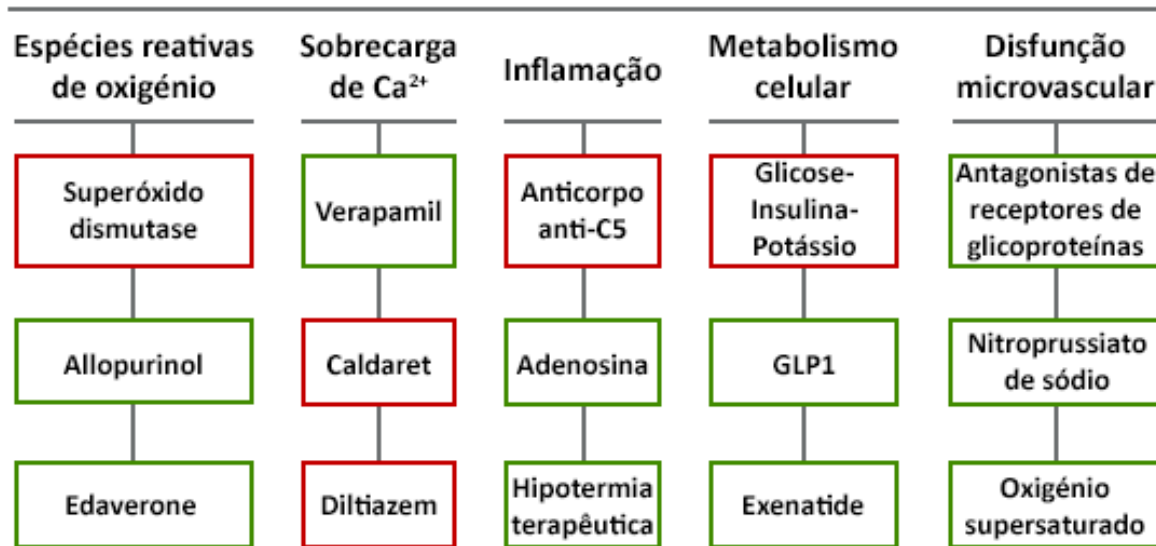


Figura 6 – Proporção de morte da área de miocárdio em risco atribuível à isquemia e a lesão de reperfusão do miocárdio (LRM) em função do tempo, em horas(h). A reperfusão precoce é a forma mais eficaz de limitar a lesão. Até se instituir terapêutica de reperfusão, a morte celular por isquemia aumenta, podendo atingir a totalidade da área em risco. Nas duas horas após o início dos sintomas a progressão da lesão é particularmente rápida, e a morte celular por LRM é relativamente baixa. Após esse período, e até às 8 horas depois do início dos sintomas, a terapêutica de reperfusão, embora estritamente necessária, produz maior LRM, sendo que o peso relativo deste tipo de lesão na área de enfarte final pode alcançar os 50%. Esta será a janela temporal ótima de intervenção ao nível da LRM, maximizando os resultados das terapêuticas de reperfusão e o miocárdio salvo. Retirada e adaptada de *Bainey et al*²⁹.

Intervenções terapêuticas dirigidas a mecanismos lesionais envolvidos na LRM



- Terapêuticas que demonstraram benefícios em ensaios clínicos
 Terapêuticas que não demonstraram benefícios em ensaios clínicos

Figura 7 – Intervenções terapêuticas dirigidas a mecanismos lesionais envolvidos na LRM. Retirado e adaptado de *Bainey et al*²⁹.

1. Intervenções mecânicas

1.1. Condicionamento isquêmico

1.1.1. Pré-condicionamento isquêmico

O pré-condicionamento isquêmico (pré-CI) corresponde a uma intervenção que causa isquemia transitória de um órgão alvo antes que seja submetido a uma isquemia permanente, mais grave, tendo como objetivo limitar a lesão daí resultante. Esta intervenção foi descrita pela primeira vez em 1986³⁰, quando foram aplicados ciclos repetitivos de 5 minutos de isquemia em corações caninos, antes de uma isquemia mais prolongada, verificando-se que o tamanho de enfarte era diminuído em cerca de 75% nos cães submetidos à intervenção. A descoberta deste efeito motivou a investigação de muitos alvos de cardioproteção hoje

conhecidos e levou ao desenvolvimento de outras intervenções, como o pós-condicionamento isquêmico (pós-CI) e o condicionamento isquêmico remoto (CIR).

O miocárdio submetido ao pré-CI liberta substâncias como a adenosina, opiáceos e bradicinina, que atuam em recetores acoplados a proteínas G⁹. Estes recetores, através de múltiplas vias aparentemente redundantes, ativam a proteína cínase C (PKC), um importante passo do pré-condicionamento, que através da via RISK (“*reperfusion injury sakvage kinases*”)³¹, atua sobretudo na mitocôndria, abrindo o canal de K⁺ mitocondrial³² e impedindo a abertura do PTPM³³. Esta cascata também é desencadeada por estímulos isquêmicos durante o pré-condicionamento, como a acidose, a produção de ERO³⁴, e a subida de concentração de Ca²⁺³⁵, que são efetores de lesão durante períodos prolongados de isquemia e durante a reperfusão.

A aplicação do pré-CI na prática clínica poderá ser útil sobretudo em intervenções eletivas que incluam períodos relativamente prolongados de isquemia³⁶, como cirurgias com recurso a cardioplegia e *bypass* cardiopulmonar, enquanto que os outros tipos de condicionamento isquêmico (CI) deverão ter mais interesse no contexto de SCA, dado serem aplicados após o início da isquemia.

1.1.2. Pós-condicionamento isquêmico

A demonstração de que a reperfusão intermitente de uma área submetida a isquemia prolongada poderia limitar a LRM criou grande expectativa, não só por ser uma intervenção mais facilmente aplicada em contexto clínico, mas também pelo grau de proteção que os resultados sugeriam, com uma estimativa de cerca de 50% de redução de enfarte, um resultado até então somente observado no pré-CI. Zhao et al³⁷ conseguiram demonstrar pela primeira vez que a cardioproteção não se confinava ao pré-condicionamento. Estes autores demonstraram que ciclos repetidos de oclusão da artéria descendente anterior durante 30

segundos seguidos de reperfusão reduziam a área de enfarte até 43% em corações caninos. Abria-se assim o caminho para o Laboratório de Hemodinâmica e a reprodução do pós-CI em doentes com EAMCSST.

Alguns dos primeiros ensaios clínicos corroboraram os resultados positivos, embora de forma mais modesta, registrando reduções de enfarte entre 19 e 39%³⁸⁻⁴¹. Contudo, alguns ensaios clínicos subsequentes não conseguiram demonstrar resultados positivos^{42, 43}, sugerindo até um efeito deletério provocado por esta intervenção⁴⁴. Uma revisão sistemática com meta-análise publicada em julho de 2014, revela que a aplicação do pós-CI, em indivíduos submetidos a intervenção coronária percutânea (ICP) por EAMCSST, apresenta benefício relativamente ao tamanho do enfarte (figura 8)⁴⁵. Contudo, esse benefício era inexistente se apenas considerados os ensaios clínicos que avaliaram o tamanho de enfarte recorrendo a ressonância magnética (figura 9). Alguns detalhes acerca dos ensaios clínicos incluídos nesta meta-análise podem ser observadas na tabela 1.

Tabela 1 – Características dos ensaios clínicos incluídos na meta-análise de Favaretto et al⁴⁵

Estudo	Pós-C/C (n)	Início de sintomas(h)	Tempo de isquemia(min) Pós-C/C	Protocolo [Ciclos x I(s)- R(s)]
Laskey 2005⁴⁶	10/7	<12	341/286	2 x 90-180
Staat 2005⁴¹	16/14	<6	318/331	4 x 60-60
Ma 2006⁴⁷	47/47	<12	395/426	3 x 30-30
Yang 2007⁴⁸	23/18	<12	312/264	3 x 30-30
Thibault 2008⁴⁰	17/21	<6	283/297	4 x 60-60
Laskey 2008⁴⁹	12/12	<6	228/222	2 x 90-180
Lønborg 2010³⁹	43/43	<6	241/255	4 x 30-30
Xue 2010⁶	23/20	<12	246/324	4 x 60-60
Sörensson 2010⁴²	38/38	<6	165/185	4 x 60-60
Garcia 2011⁵⁰	22/21	<12	270/264	4 x 30-30
Freixa 2012⁴³	39/40	<12	326/330	4 x 60-60
Tarantini 2012⁴⁴	39/39	<6	212/194	4 x 60-60
Thuny 2012³⁸	25/25	<12	289/215	4 x 60-60
Dwyer 2013⁵¹	39/40	<6	151/167	4 x 30-30

C = Grupo de Controlo; n = Número de doentes; I = Isquemia; Pós-C = Grupo de pós-condicionamento; R = Reperfusão; s = segundos.

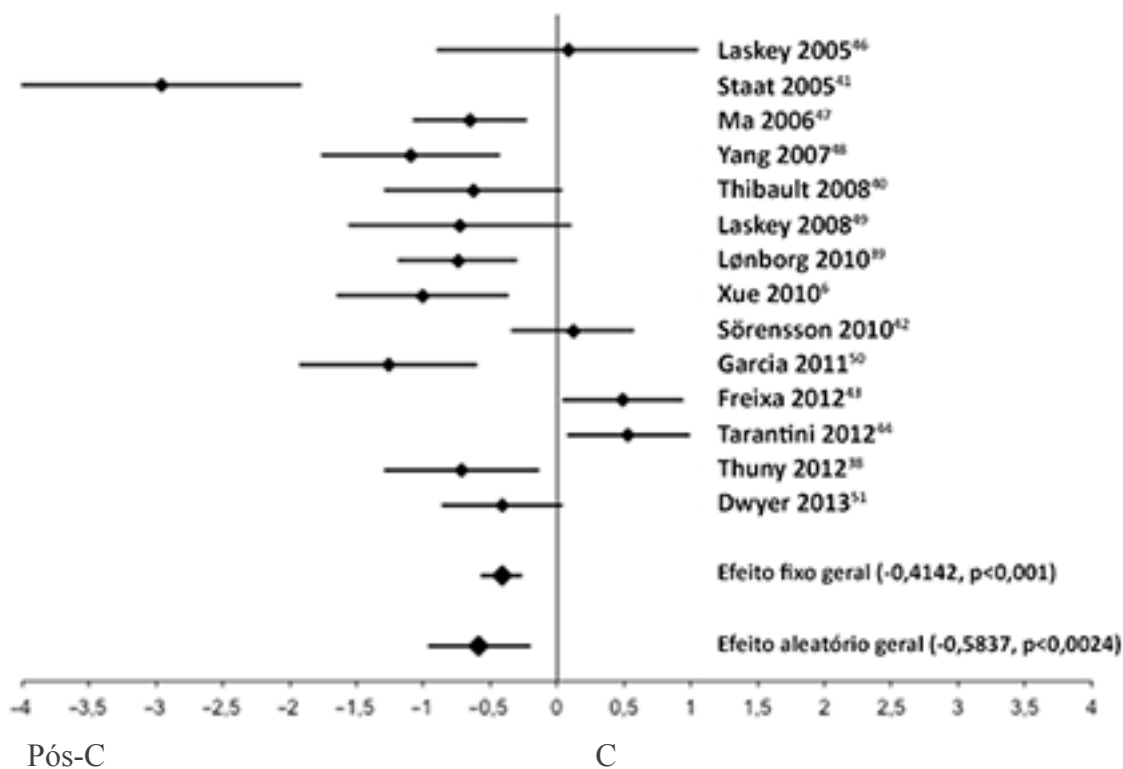


Figura 8 – Retirado e adaptado de Favaretto et al⁴⁵. *Forrest-plot* da diferença no tamanho de enfarte nos ensaios clínicos incluídos nesta meta-análise.

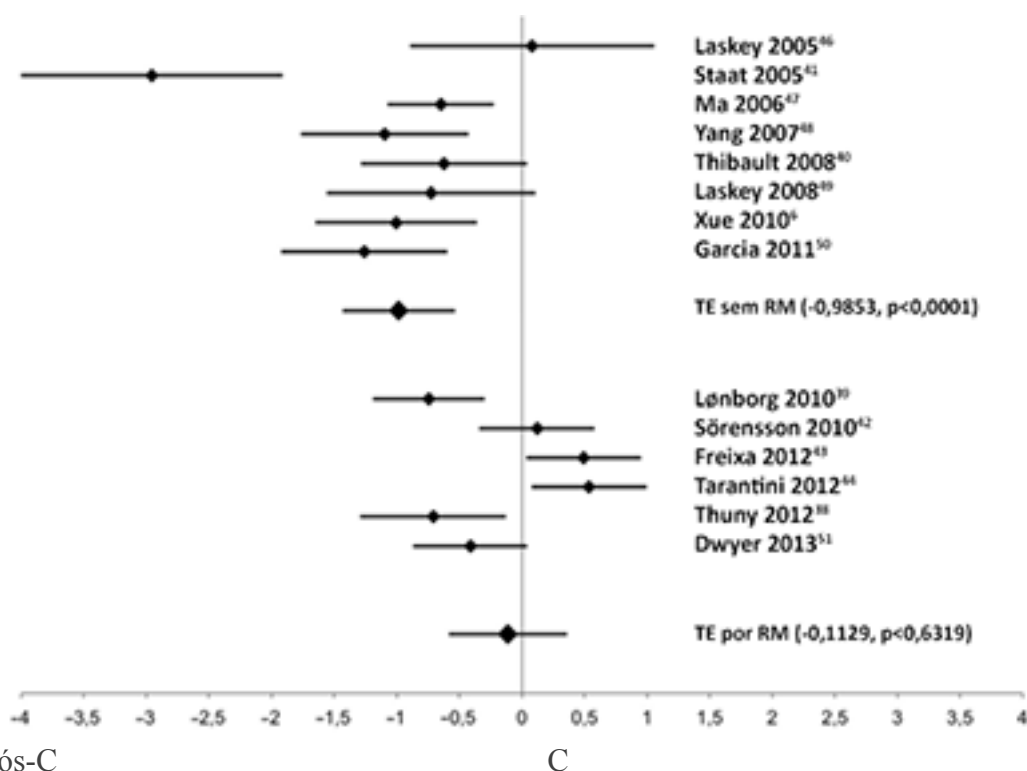


Figura 9 – Retirado e adaptado de Favaretto et al⁴⁵. *Forrest-plot* da diferença no tamanho de enfarte (TE) nos ensaios clínicos que não utilizaram a Ressonância Magnética (RM) como método de estimativa, em cima. Diferença no TE nos ensaios clínicos que utilizaram a RM como método de estimativa, em baixo.

1.1.3. Condicionamento isquêmico remoto

Uma outra forma de CI do miocárdio é o CIR. É uma intervenção que demonstra o longo alcance do CI, que se baseia em aplicar períodos de isquemia transitória, não no órgão alvo de proteção, mas noutro órgão, preferencialmente de mais fácil acesso e com maior tolerância a isquemia. Na primeira vez que foi descrita, a aplicação de ciclos de IR na artéria circunflexa, reduziu o tamanho de enfarte resultante de oclusão da artéria descendente anterior⁴⁵. Em ensaios clínicos subsequentes, protocolos de IR utilizados nos membros inferiores e superiores, obtiveram resultados positivos na diminuição de tamanhos de enfarte⁵², ⁵³ e mortalidade aos 1,5 anos em doentes submetidos a cirurgia de *bypass* coronário⁵³, respetivamente. Os fundamentos biológicos para a existência desta forma de cardioproteção deverão estar relacionados com mediadores neuro-hormonais⁵⁴. É provável que as vias de proteção intracelulares ativadas sejam comuns às outras formas de CI. Esta metodologia pode ser aplicada sem necessidade de um procedimento invasivo, pelo que a sua aplicabilidade clínica é muito elevada.

Em 2012, uma revisão sistemática com meta-análise⁵⁵ estudou múltiplos ensaios clínicos que testaram o CIR em doentes submetidos a cirurgia cardíaca, ICP e cirurgia vascular. Embora não se tenham verificado diferenças na mortalidade, a incidência de enfarte peri-procedimento e o tamanho de enfarte (estimado por quantificação da troponina) foram menores. Os ensaios clínicos em indivíduos que foram sujeitos a ICP, verificaram uma tendência para melhoria funcional a curto⁵², ⁵⁶ e longo prazo⁵⁷. Num novo ensaio clínico, publicado em 2013, verificou-se uma redução relativa de enfarte (estimado pelo valor da cínase de creatina (CK)) de cerca de 20%⁵⁷, em indivíduos com EAMCSST da parede anterior.

A evidência existente relativamente à aplicação do CIR é escassa, sobretudo em contexto de SCA, pelo que os resultados dos ensaios clínicos a decorrer e a execução de

novos ensaios, de maior dimensão, trarão grandes benefícios relativamente ao conhecimento atual.

1.2. Hipotermia terapêutica

Uma outra intervenção mecânica que visa diminuir a LRM é a hipotermia terapêutica, cuja premissa é que o arrefecimento corporal total, ou apenas do miocárdio através da perfusão de soro arrefecido, a temperaturas entre os 32-35°C limita a lesão de reperfusão⁵⁸. De facto, este tipo de intervenção é utilizada para limitar a lesão de reperfusão cerebral em doentes que sofrem paragens cardiorrespiratórias. A proteção que confere encontra-se, por isso, mais estudada na lesão neuronal. Acredita-se que atue por múltiplos factores⁵⁸, sendo de esperar que alguns dos seus efeitos tenham impacto na LRM, nomeadamente a limitação de: distúrbios metabólicos, disfunção mitocondrial, produção de ERO, mediadores e efetores inflamatórios, distúrbios iónicos (incluindo distúrbios do Ca^{2+} , aparentemente através da inibição do trocador $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ ^{58, 59}).

Tal como verificado com outras medidas de cardioproteção, os estudos experimentais pré-clínicos⁵⁹⁻⁶¹ demonstraram resultados muito mais promissores do que os ensaios clínicos levados a cabo. Verificou-se que um dos factores mais importantes para o sucesso da intervenção é o seu *timing*, sendo mais eficaz quanto mais precocemente aplicada, sobretudo antes da reperfusão^{61, 62}. Em 2010, um estudo piloto⁶³ aleatorizou 120 doentes com EAMCSST com menos de 6 horas de evolução a ICP seguido de hipotermia induzida por perfusão endovenosa de 600 a 2000 mL de soro fisiológico arrefecido (iniciada antes da ICP e prolongada até 1 hora após), ou apenas a ICP, demonstrando uma diminuição de 38% de tamanho de enfarte, relativamente à área-em-risco determinada por ressonância magnética. Um ensaio clínico multi-centro, levado a cabo para esclarecer os resultados deste último, foi

incapaz de encontrar diferenças para o mesmo resultado primário, verificando, porém, menor incidência de insuficiência cardíaca aos 45 dias⁶⁴.

1.3. Hiperoxemia (“Oxigénio supersaturado”)

A hiperoxemia resultante da administração de “oxigénio supersaturado” (como terapêutica adjuvante mecânica) após a reperfusão poderá diminuir a disfunção microvascular, reduzindo o edema endotelial e favorecendo a ação do NO.

Dois ensaios clínicos que se dedicaram a estabelecer o impacto desta intervenção na LRM, em doentes com EAMCSST submetidos a ICP, obtiveram resultados promissores. O primeiro, com uma amostra de 269 doentes, submeteu os doentes do grupo intervencionado (n=117) a 90 minutos de perfusão intracoronária hiperoxémica (760 a 1000 mmHg) com oxigénio aquoso⁶⁵, após ICP. Este estudo não encontrou diferenças nos objetivos principais, nomeadamente, resolução do segmento ST, tamanho de enfarte e parâmetros ecocardiográficos de cinética ventricular. Contudo, um sub-grupo intervencionado até 6 horas após o início dos sintomas teve melhores resultados nesses mesmos parâmetros. Assim, foi realizado um segundo ensaio clínico no qual foram incluídos 301 doentes submetidos a ICP até 6 horas após o início dos sintomas⁶⁶. Os resultados confirmaram a tendência demonstrada pelo sub-grupo do primeiro ensaio no que diz respeito ao tamanho do enfarte, com uma redução de cerca de 23% aos 14 dias (estimativa por cintigrafia miocárdica - SPECT) no grupo intervencionado (n=222), face ao grupo de controlo (n=79). Contudo, não houveram diferenças na ocorrência de eventos cardiovasculares adversos *major* nos primeiros 30 dias.

2. Intervenções farmacológicas

São muitas as intervenções farmacológicas estudadas, dirigidas à LRM. Inicialmente tentou-se atingir a LRM nos seus mecanismos lesionais mais gerais como a sobrecarga de

Ca^{2+} , as ERO, e a variação do pH, através de moduladores dos canais de Ca^{2+} , inibidores do trocador Na^+/H^+ ¹⁰ e agentes anti-oxidantes⁶⁷. No entanto, os resultados encontrados nos ensaios clínicos não foram os esperados ou foram contraditórios. O nicorandil (um abridor de canais de K^+ dependentes do ATP, que contém um radical nitrato) também tem sido investigado neste âmbito, colocando-se a hipótese de limitar a LRM ao diminuir a disfunção microvascular⁶⁸ ou ao interferir com os canais de K^+ ATP dependentes mitocondriais.

Tendo em conta o papel central do PTPM na LRM (figura 2), muitos estudos propuseram a utilização de fármacos que interferissem com a sua abertura (tabela 2). As intervenções farmacológicas atualmente mais promissoras atuam sobre o PTPM quer diretamente (tabela 3), quer por influência em parâmetros biológicos envolvidos na sua abertura como as ERO, o Ca^{2+} e o pH ou em vias moduladoras da sua função como a via RISK mediada pela PKC.

Tabela 2 – Fármacos que inibem o PTPM indiretamente

Estudo	Substância ativa/Amostra(n)	Protocolo	Resultados
Lønborg 2010³⁹	Exenatide/n=122	Exenatide (0,12 µg/min, ev) 15 minutos antes de ICP e exenatide (0,043 µg/min, ev) durante 6h	23% de redução do tamanho de enfarte aos 90 dias (estimado por RM); aumento de 15% no índice de "salvação" miocárdica.
Kitakaze 2007⁶⁹	ANP/n=569	Carperitide (0,025 µg/kg/min ev) durante 72h após reperfusão	14% de redução do tamanho de enfarte (estimado por AUC de CK).
Ross 2005⁷⁰	Adenosina/n=2118	Adenosina (50-70 µg/kg/min, ev) durante 3h após ICP	57% de redução de tamanho de enfarte em sub-grupo que recebeu doses mais altas (resultado secundário); não encontrou diferenças em resultados clínicos.
Kim 2010⁷¹	Atorvastatina/n=171	Atorvastatina (80 mg, oral) vs. Atorvastatina (10 mg, oral) antes de ICP	Não foram encontradas diferenças na mortalidade, tamanho de enfarte, revascularização e re-enfarte.
Selker 2012⁷²	GIK/n=871	GIK (ev) iniciado na ambulância em suspeitas de EAMCSST	Sem diferenças na progressão para EAM; redução de morte e paragem cardíacas intra-hospitalar.
AUC = área-sob-a-curva; CK = Cínase de Creatina; EAM = Enfarte agudo do miocárdio; ev = endovenoso GIK = Glicose-Insulina-Potássio; ICP = Intervenção coronária percutânea; n = Número de doentes; RM = Ressonância Magnética; PTPM = Poro de transição da permeabilidade mitocondrial			

Retirada e adaptada de *Morciano et al*⁷.

2.1. Ciclosporina A

Embora a identidade molecular do PTPM continue por esclarecer, a descoberta de que a ciclofilina-D faz parte da sua composição²⁴, motivou a investigação da ciclosporina A como inibidor da sua abertura.

Em 2008, um ensaio piloto demonstrou uma redução de enfarte por critérios enzimáticos (CK) de 40% e uma redução do tamanho do enfarte aos 5 dias de 20% (estimado por ressonância magnética), em indivíduos submetidos a ICP por EAMCSST⁷³ (tabela 3). Resultados desta magnitude motivaram a realização de um ensaio clínico de maiores dimensões [CIRCUS (NCT01502774)], assim como a investigação de outros inibidores do PTPM^{74, 75}. Esta intervenção demonstrou também eficácia na prevenção de LRM em contexto de cirurgia valvular cardíaca⁷⁶.

Tabela 3 – Fármacos que inibem o PTPM diretamente.

Estudo	Substância ativa/Amostra(n)	Protocolo	Resultados
Piot 2008 ⁷³	Ciclosporina A/n=58	Ciclosporina A (2,5 mg/kg, ev) 10min antes de ICP	44% de redução do tamanho de enfarte (AUC de CK às 72h); 28% de redução de tamanho de enfarte aos 6 meses (RM),
Hausenloy 2014 ⁷⁷	Ciclosporina A/n=78	Ciclosporina A (2,5 mg/kg, ev) após indução de anestesia mas antes de esternotomia.	Redução da lesão miocárdica perioperatória.
Chiari 2014 ⁷⁶	Ciclosporina A/n=61	Ciclosporina A (2,5 mg/kg, ev) menos de 10 minutos antes de clampagem da aorta	35% de redução de enfarte (AUC de troponina I).
(Mitocare) ⁷⁵	TRO40303/n=180	TRO40303 (35 ml/min, ev) 15 minutos antes de insuflação de balão e colocação de stent por ICP	Ensaio a decorrer para avaliar o efeito de fármaco experimental que modula o PTPM. Resultados primários: tamanho de enfarte (CK total, AUC de troponina e índice de “salvação” miocárdica (RM)

AUC = área-sob-a-curva; CK = Cínase de Creatina; ev = endovenoso; ICP = Intervenção coronária percutânea; n = número de doentes; RM = Ressonância Magnética; PTPM = Poro de transição da permeabilidade mitocondrial;

Retirado e adaptado de *Morciano et al*⁷.

2.2. Adenosina

Pensa-se que a adenosina endógena é um dos efetores no CI do miocárdio⁹. Assim, a perfusão de adenosina, como hipótese de tratamento da LRM, tem como intenção desencadear essa forma de proteção que inclui a via RISK⁷⁸, e tem como um dos principais alvos o PTPM (figura 3).

Tabela 4 – Ensaios clínicos que testaram a Adenosina na LRM.

Estudo	Amostra(n)	Protocolo	Resultados
Mahaffey 1999 ⁷⁹	n=236	Adenosina (70 µg/Kg/min, ev) antes da reperfusão e durante 3h	67% de redução do tamanho de enfarte (cintigrafia -SPECT) em indivíduos com EAMCSST anterior.
Marzilli 2000 ⁸⁰	n=54	Adenosina (4mg em 2ml de soro, ic) 1 min durante a reperfusão	Diminuição de fenómeno de “ <i>no-reflow</i> ”. Efeito benéfico na função ventricular e curso clínico.
Ross 2005 ⁷⁰	n=2118	Adenosina (50-70 µg/Kg/min, ev) durante 3h após ICP	57% de redução de tamanho de enfarte em sub-grupo que recebeu doses mais altas (resultado secundário); não foram encontradas diferenças em resultados clínicos.
Desmet 2011 ⁸¹	n=110	Adenosina (4mg em 5ml de soro, ic) durante a reperfusão	Não foram encontradas diferenças no índice de salvação miocárdica.

AUC = área-sob-a-curva; CK = Cínase de Creatina; ev = endovenoso; ic = intra-coronário; ICP = Intervenção coronária percutânea; LRM = Lesão de reperfusão do miocárdio; n = número de doentes; RM = Ressonância Magnética; PTPM = Poro de transição da permeabilidade mitocondrial;

Retirado e adaptado de *Bernink et al*⁸²

Um ensaio clínico multicêntrico realizado em 1999⁷⁹, começou por demonstrar uma redução relativa no tamanho de enfarte de 33% (67% de redução no EAMCSST), em doentes com perfusão endovenosa de adenosina antes da reperfusão e durante 3 horas. Um segundo estudo feito com base neste, propôs-se a verificar as diferenças no desfecho clínico, imediato e aos 6 meses, não encontrando diferenças, embora registando uma diminuição relativa do tamanho de enfarte na ordem dos 57% num sub-grupo, com EAMCSST, que recebeu doses mais altas de adenosina⁷⁰. Outros ensaios clínicos testaram a possibilidade de maior cardioproteção através de adenosina intra-coronária, chegando a conclusões contraditórias^{80, 81} (tabela 4). Para além da adenosina exógena, a utilização de modificadores da atividade da

adenosina, como a acadesina⁸³ (que reduziu o risco de morte por enfarte peri-operatório aos 2 anos), e moduladores alostéricos do recetor A3⁸⁴, demonstraram resultados favoráveis.

A evidência existente sugere benefício na utilização da adenosina, não só em indivíduos submetidos a reperfusão coronária urgente, como em intervenções eletivas. É necessário demonstrar benefício clínico a médio e longo prazo em estudos prospetivos de grande dimensão.

2.3. Peptídeo tipo-glicogénio 1 e Exenatide

O peptídeo tipo-glicogénio 1 (GLP1) é utilizado no tratamento da Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) e atua num recetor próprio (GLP1-R) existente em vários tecidos, incluindo o miocárdio. O seu efeito foi testado na LRM na sequência de experiências com a combinação Glicose-Insulina-Potássio⁸⁵, conferindo proteção ao alterar o metabolismo do miocárdio isquémico e ao ativar vias de sobrevivência celular⁸⁶. Os pequenos ensaios clínicos realizados demonstraram benefícios em indicadores de função ventricular a curto prazo^{87, 88} (tabela 5). No entanto, a evidência é escassa e são necessários estudos de maiores dimensões que permitam tirar conclusões acerca do índice de salvação miocárdica (função da área miocárdica em risco e do tamanho final de enfarte) e do impacto clínico da intervenção. Uma das limitações desta intervenção é a curta semi-vida do GLP1. Tal como no tratamento da DM2 os inibidores da dipeptidil peptidase subtipo 4 (DDP4) podem ter aqui um papel, e já têm sido alvo de investigação nesta área, com a sitagliptina e a vildagliptina a diminuírem o tamanho de enfarte em modelos animais quando associadas ao GLP1, num efeito dependente dos níveis plasmáticos de glicose.⁸⁹

Tabela 5 – Ensaios clínicos que testaram o GLP1 na LRM.

Estudo	Amostra(n)	Protocolo	Resultados
Nikolaidis (2004)⁸⁷	n=21	GLP1 (1,5 pmol/kg/min, ev) após a reperfusão e durate 72h	Melhoria da função ventricular esquerda global às 6-12h
Read (2011)⁸⁸	n=20	GLP1 (1,2 pmol/kg/min, iv) após primeira insuflação do balão e até ao fim da ICP	Melhor recuperação da função sistólica e diastólica aos 30 minutos. Diminuição do “stunning” miocárdico.

ev = endovenoso; ICP = Intervenção coronária percutânea; GLP1 = Peptídeo tipo-glicogénio 1; LRM = Lesão de reperfusão do miocárdio; n = número de doentes

Retirado e adaptado de *Bernink et al*⁸².

O exenatide, uma das mais recentes armas no tratamento da DM2, é agonista do GLP1-R, e provoca efeitos semelhantes ao próprio GLP1 no cardiomióctio, aumentando a captação de glicose e otimizando o metabolismo. Para além disso, os benefícios do exenatide na LRM aparentemente superam esses efeitos, ativando vias de sobrevivência celular e diminuindo a produção de ERO⁹⁰. Os ensaios clínicos que testaram o impacto do exenatide em doentes submetidos a terapêutica de reperfusão coronária por EAMCSST demonstraram resultados muito promissores, estimando reduções de tamanho de enfarte na ordem dos 30-40%^{91, 92} (tabela 6). Tal como sugerido por outros estudos experimentais⁹⁰, a proteção conferida pelo exenatide parece não ser exclusivamente dependente do metabolismo da glicose, limitando a dimensão de enfarte quer em indivíduos hiperglicémicos, quer em indivíduos normoglicémicos⁹³.

Tabela 6 – Ensaios clínicos que testaram o exenatide na LRM.

Estudo	Amostra(n)	Protocolo	Resultados
Lønborg 2010⁹²	n=122	Exenatide (0,12 µg/min, ev) 15 minutos antes de ICP e exenatide (0,043 µg/min, ev) durante 6h após ICP	23% de redução do tamanho de enfarte aos 90 dias (estimado por RM); aumento de 15% no índice de “salvação” miocárdica.
Bernink (2012)⁹⁴	n=39	Exenatide (5 µg, ev) 30 min antes da reperfusão e exenatide (0,014 µg/kg/min, ev) durante 72h	Estudo de viabilidade. Seguro e reprodutível. Tendência para melhor relação tamanho de enfarte/área-em-risco no grupo intervencionado.
Woo (2013)⁹¹	n=58	Exenatide (10 µg, sc + 10 µg, ev) 5 min antes da reperfusão; exenatide (10 µg, sc) diariamente até às 24h	40% de redução de tamanho de enfarte (quantificação de CK e troponina I)

2.4. *Peptídeo Natriurético Auricular*

O peptídeo natriurético auricular (ANP) desempenha evidentes funções de preservação cardiovascular, sendo que as suas ações mais óbvias dependem do seu efeito vasodilatador, natriurético e inibidor do sistema renina-angiotensina-aldosterona⁹⁵. Estas ações permitem que o ANP seja protetor do miocárdio não só em situações de excesso de volume intravascular mas também em contexto de doença coronária e enfarte do miocárdio, limitando a progressão da doença cardíaca⁹⁵. Para além destes efeitos, o ANP desempenha, à semelhança de outras medidas cardioprotetoras, atividade anti-inflamatória, anti-apoptótica e moduladora do metabolismo cardíaco⁹⁶. Os estudos experimentais levados a cabo indicam que o efeito protetor do ANP se estende à LRM por múltiplas vias (figura 2), algumas já referidas, como a via RISK, mas também através de vias de sinalização intracelular que envolvem a ativação da proteína cínase G (PKG)⁹⁷.

Alguns ensaios clínicos de pequena dimensão registaram os efeitos protetores do ANP em situações de IR⁹⁷⁻⁹⁹. No entanto, os dados mais promissores têm origem num ensaio clínico de grandes dimensões que se propôs testar a proteção conferida pelo ANP e pelo nicorandil na LRM em doentes que sofreram EAM⁶⁹ (tabela 2). Este último, com uma amostra inicial de 569 doentes, 255 foram randomizados e receberam tratamento com ANP via perfusão endovenosa durante 3 dias, após terapêutica de reperfusão, sendo comparados com 280 doentes do grupo controlo. Os resultados indicam, para esta amostra, uma redução de tamanho de enfarte de 14,7% nos indivíduos tratados com ANP. Para além deste resultado, verificou-se também neste grupo uma tendência de aumento de fração de ejeção ventricular

esquerda entre as 2 e 8 semanas e os 6 e 12 meses, assim como menores taxas de morte de causa cardíaca e admissão hospitalar por insuficiência cardíaca.

Conclusões

As SCA são muitas vezes a primeira manifestação de doença coronária e podem resultar em morte súbita ou, frequentemente, numa doença cardíaca progressiva que acompanha o doente o resto da vida, com alta morbilidade e mortalidade. Por isso, limitar a extensão da lesão resultante de um SCA, tem o máximo interesse, tanto a curto, como a médio e longo prazo, uma vez que qualquer fração de miocárdio salva será importantíssima não só na a fase aguda da doença como para preservar a função cardíaca do futuro. Os notáveis avanços que se fizeram na abordagem aos doentes com SCA, nomeadamente no que diz respeito às terapêuticas de reperfusão, são da maior importância, e a investigação nesta área deve ser cada vez maior, uma vez que a reperfusão precoce, quando indicada, é o mais importante fator de preservação cardíaca. Contudo, admitindo que a lesão isquémica é seguida por uma lesão de reperfusão e que já existem estratégias eficazes para limitar a lesão isquémica, é talvez altura de dar atenção à LRM. Uma vez que é um alvo terapêutico até agora negligenciado, qualquer intervenção que atinja eficazmente a LRM trará, provavelmente, um grande benefício.

A investigação da fisiopatologia da LRM abriu os horizontes da cardioproteção. Percebe-se agora que os estímulos protetores endógenos, como os conferidos pelo CI, atuam por múltiplas vias, muitas vezes redundantes. O estudo desses mecanismos levou a colocar em hipótese várias intervenções, algumas delas muito promissoras, como é o caso do CIR, da Ciclosporina A e da Adenosina. O estudo de outras vias de cardioproteção, como a via SAFE¹⁰⁰ (“*survival activating factor enhancement*”), que aparentemente é ativada em paralelo com a via RISK durante o CI, deverá levar à investigação de novas estratégias terapêuticas.

Os dados clínicos recolhidos até a data conjugados com a informação pré-clínica e o crescente aperfeiçoamento das medidas de reperfusão, levam a acreditar que, no futuro, intervenções dirigidas à LRM sejam aplicadas na prática clínica sempre que se verifiquem situações de IR.

Bibliografia

1. Laslett LJ, Alagona P, Jr., Clark BA, 3rd, et al. The worldwide environment of cardiovascular disease: prevalence, diagnosis, therapy, and policy issues: a report from the American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(25 Suppl):S1-49.
2. Santos JF, Aguiar C, Gavina C, et al. Portuguese Registry of Acute Coronary Syndromes: seven years of activity. *Rev Port Cardiol*. 2009;28(12):1465-500.
3. Francone M, Bucciarelli-Ducci C, Carbone I, et al. Impact of primary coronary angioplasty delay on myocardial salvage, infarct size, and microvascular damage in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: insight from cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2145-53.
4. Piper H, García-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 1998;38(2):291-300.
5. Fröhlich GM, Meier P, White SK, et al. Myocardial reperfusion injury: looking beyond primary PCI. *Eur Heart J*. 2013;34(23):1714-22.
6. Xue F, Yang X, Zhang B, et al. Postconditioning the human heart in percutaneous coronary intervention. *Clin Cardiol*. 2010;33(7):439-44.
7. Morciano G, Giorgi C, Bonora M, et al. Molecular identity of the mitochondrial permeability transition pore and its role in ischemia-reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol*. 2015;78:142-53.
8. Rosano GM, Fini M, Caminiti G, et al. Cardiac metabolism in myocardial ischemia. *Curr Pharm Des*. 2008;14(25):2551-62.
9. Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;301(5):H1723-41.
10. Stromer H, de Groot MC, Horn M, et al. Na(+)/H(+) exchange inhibition with HOE642 improves postischemic recovery due to attenuation of Ca(2+) overload and prolonged acidosis on reperfusion. *Circulation*. 2000;101(23):2749-55.
11. Mack CP, Brosamer KM, Schlafer M. Ultrastructural demonstration of peroxidative activity and peroxidation in ischaemic and ischaemic-reperfused rabbit hearts. *Cardiovasc Res*. 1993;27(3):371-6.
12. Cohen MV, Yang XM, Downey JM. Acidosis, oxygen, and interference with mitochondrial permeability transition pore formation in the early minutes of reperfusion are critical to postconditioning's success. *Basic Res Cardiol*. 2008;103(5):464-71.
13. Loo G, Kondapalli J, Iwase H, et al. Mitochondrial oxidant stress triggers cell death in simulated ischemia-reperfusion. *Biochim Biophys Acta*. 2011;1813(7):1382-94.
14. Abdallah Y, Kasseckert SA, Iraqi W, et al. Interplay between Ca²⁺ cycling and mitochondrial permeability transition pores promotes reperfusion-induced injury of cardiac myocytes. *J Cell Mol Med*. 2011;15(11):2478-85.

15. Hafstad AD, Nabeebaccus AA, Shah AM. Novel aspects of ROS signalling in heart failure. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(4):359.
16. Dost T, Cohen MV, Downey JM. Redox signaling triggers protection during the reperfusion rather than the ischemic phase of preconditioning. *Basic Res Cardiol.* 2008;103(4):378-84.
17. Akao M, O'Rourke B, Teshima Y, et al. Mechanistically distinct steps in the mitochondrial death pathway triggered by oxidative stress in cardiac myocytes. *Circ Res.* 2003;92(2):186-94.
18. Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res Cardiol.* 2006;101(5):359-72.
19. Pike MM, Luo CS, Clark MD, et al. NMR measurements of Na⁺ and cellular energy in ischemic rat heart: role of Na⁺-H⁺ exchange. *Am J Physiol.* 1993;265(6 Pt 2):H2017-26.
20. Lee EH, Park SR, Paik KS, et al. Intracellular acidosis decreases the outward Na⁺-Ca²⁺ exchange current in guinea pig ventricular myocytes. *Yonsei Med J.* 1995;36(2):146-52.
21. Inserte J, Garcia-Dorado D, Ruiz-Meana M, et al. Effect of inhibition of Na⁺/Ca²⁺ exchanger at the time of myocardial reperfusion on hypercontracture and cell death. *Cardiovasc Res.* 2002;55(4):739-48.
22. Siemen D, Ziemer M. What is the nature of the mitochondrial permeability transition pore and what is it not? *IUBMB Life.* 2013;65(3):255-62.
23. Elrod JW, Wong R, Mishra S, et al. Cyclophilin D controls mitochondrial pore-dependent Ca²⁺ exchange, metabolic flexibility, and propensity for heart failure in mice. *J Clin Invest.* 2010;120(10):3680-7.
24. Elrod JW, Molkentin JD. Physiologic functions of cyclophilin D and the mitochondrial permeability transition pore. *Circ J.* 2013;77(5):1111-22.
25. Konstantinidis K, Whelan RS, Kitsis RN. Mechanisms of cell death in heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2012;32(7):1552-62.
26. Di Lisa F, Menabo R, Canton M, et al. Opening of the mitochondrial permeability transition pore causes depletion of mitochondrial and cytosolic NAD⁺ and is a causative event in the death of myocytes in postischemic reperfusion of the heart. *J Biol Chem.* 2001;276(4):2571-5.
27. Hausenloy DJ, Duchon MR, Yellon DM. Inhibiting mitochondrial permeability transition pore opening at reperfusion protects against ischaemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 2003;60(3):617-25.
28. Ruiz-Meana M, Abellan A, Miro-Casas E, et al. Opening of mitochondrial permeability transition pore induces hypercontracture in Ca²⁺ overloaded cardiac myocytes. *Basic Res Cardiol.* 2007;102(6):542-52.
29. Baine KR, Armstrong PW. Clinical perspectives on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 2014;167(5):637-45.
30. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-36.
31. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, et al. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005;288(2):H971-6.
32. Liang BT. Protein kinase C-mediated preconditioning of cardiac myocytes: role of adenosine receptor and KATP channel. *Am J Physiol.* 1997;273(2 Pt 2):H847-53.
33. Hausenloy DJ, Tsang A, Yellon DM. The reperfusion injury salvage kinase pathway: a common target for both ischemic preconditioning and postconditioning. *Trends Cardiovasc Med.* 2005;15(2):69-75.

34. Baines CP, Goto M, Downey JM. Oxygen radicals released during ischemic preconditioning contribute to cardioprotection in the rabbit myocardium. *J Mol Cell Cardiol.* 1997;29(1):207-16.
35. Miyawaki H, Ashraf M. Ca²⁺ as a mediator of ischemic preconditioning. *Circ Res.* 1997;80(6):790-9.
36. Walsh SR, Tang TY, Kullar P, et al. Ischaemic preconditioning during cardiac surgery: systematic review and meta-analysis of perioperative outcomes in randomised clinical trials. *Eur J Cardiothorac Surg.* 2008;34(5):985-94.
37. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, et al. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2003;285(2):H579-88.
38. Thuny F, Lairez O, Roubille F, et al. Post-conditioning reduces infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;59(24):2175-81.
39. Lonborg J, Kelbaek H, Vejstrup N, et al. Cardioprotective effects of ischemic postconditioning in patients treated with primary percutaneous coronary intervention, evaluated by magnetic resonance. *Circ Cardiovasc Interv.* 2010;3(1):34-41.
40. Thibault H, Piot C, Staat P, et al. Long-term benefit of postconditioning. *Circulation.* 2008;117(8):1037-44.
41. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation.* 2005;112(14):2143-8.
42. Sorensson P, Saleh N, Bouvier F, et al. Effect of postconditioning on infarct size in patients with ST elevation myocardial infarction. *Heart.* 2010;96(21):1710-5.
43. Freixa X, Bellera N, Ortiz-Perez JT, et al. Ischaemic postconditioning revisited: lack of effects on infarct size following primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J.* 2012;33(1):103-12.
44. Tarantini G, Favaretto E, Marra MP, et al. Postconditioning during coronary angioplasty in acute myocardial infarction: the POST-AMI trial. *Int J Cardiol.* 2012;162(1):33-8.
45. Favaretto E, Roffi M, Frigo AC, et al. Meta-analysis of randomized trials of postconditioning in ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2014;114(6):946-52.
46. Laskey WK. Brief repetitive balloon occlusions enhance reperfusion during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a pilot study. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2005;65(3):361-7.
47. Ma X, Zhang X, Li C, et al. Effect of postconditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function and LV recovery after myocardial infarction. *J Interv Cardiol.* 2006;19(5):367-75.
48. Yang XC, Liu Y, Wang LF, et al. Reduction in myocardial infarct size by postconditioning in patients after percutaneous coronary intervention. *J Invasive Cardiol.* 2007;19(10):424-30.
49. Laskey WK, Yoon S, Calzada N, et al. Concordant improvements in coronary flow reserve and ST-segment resolution during percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: a benefit of postconditioning. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2008;72(2):212-20.
50. Garcia S, Henry TD, Wang YL, et al. Long-term follow-up of patients undergoing postconditioning during ST-elevation myocardial infarction. *J Cardiovasc Transl Res.* 2011;4(1):92-8.
51. Dwyer NB, Mikami Y, Hilland D, et al. No cardioprotective benefit of ischemic postconditioning in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *J Interv Cardiol.* 2013;26(5):482-90.

52. Botker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, et al. Remote ischaemic conditioning before hospital admission, as a complement to angioplasty, and effect on myocardial salvage in patients with acute myocardial infarction: a randomised trial. *Lancet*. 2010;375(9716):727-34.
53. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, et al. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischaemic preconditioning in patients undergoing coronary artery bypass surgery: a single-centre randomised, double-blind, controlled trial. *Lancet*. 2013;382(9892):597-604.
54. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*. 2008;79(3):377-86.
55. Brevoord D, Kranke P, Kuijpers M, et al. Remote ischemic conditioning to protect against ischemia-reperfusion injury: a systematic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2012;7(7):e42179.
56. Munk K, Andersen NH, Schmidt MR, et al. Remote Ischemic Conditioning in Patients With Myocardial Infarction Treated With Primary Angioplasty: Impact on Left Ventricular Function Assessed by Comprehensive Echocardiography and Gated Single-Photon Emission CT. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2010;3(6):656-62.
57. Sloth AD, Schmidt MR, Munk K, et al. Improved long-term clinical outcomes in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing remote ischaemic conditioning as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2014;35(3):168-75.
58. Moore EM, Nichol AD, Bernard SA, et al. Therapeutic hypothermia: benefits, mechanisms and potential clinical applications in neurological, cardiac and kidney injury. *Injury*. 2011;42(9):843-54.
59. Inoue K, Ando S, Gyuan F, et al. A study of the myocardial protective effect of rapid cooling based on intracellular Ca, intracellular pH, and HSP70. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2003;9(5):301-6.
60. Shao ZH, Chang WT, Chan KC, et al. Hypothermia-induced cardioprotection using extended ischemia and early reperfusion cooling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2007;292(4):H1995-2003.
61. Gotberg M, Olivecrona GK, Engblom H, et al. Rapid short-duration hypothermia with cold saline and endovascular cooling before reperfusion reduces microvascular obstruction and myocardial infarct size. *BMC Cardiovasc Disord*. 2008;8:7.
62. Kanemoto S, Matsubara M, Noma M, et al. Mild hypothermia to limit myocardial ischemia-reperfusion injury: importance of timing. *Ann Thorac Surg*. 2009;87(1):157-63.
63. Gotberg M, Olivecrona GK, Koul S, et al. A pilot study of rapid cooling by cold saline and endovascular cooling before reperfusion in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv*. 2010;3(5):400-7.
64. Erlinge D, Gotberg M, Lang I, et al. Rapid endovascular catheter core cooling combined with cold saline as an adjunct to percutaneous coronary intervention for the treatment of acute myocardial infarction. The CHILL-MI trial: a randomized controlled study of the use of central venous catheter core cooling combined with cold saline as an adjunct to percutaneous coronary intervention for the treatment of acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(18):1857-65.
65. O'Neill WW, Martin JL, Dixon SR, et al. Acute Myocardial Infarction with Hyperoxemic Therapy (AMIHOT): a prospective, randomized trial of intracoronary hyperoxemic reperfusion after percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(5):397-405.
66. Stone GW, Martin JL, de Boer MJ, et al. Effect of supersaturated oxygen delivery on infarct size after percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv*. 2009;2(5):366-75.

67. Guan W, Osanai T, Kamada T, et al. Effect of allopurinol pretreatment on free radical generation after primary coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 2003;41(5):699-705.
68. Ito H, Taniyama Y, Iwakura K, et al. Intravenous nicorandil can preserve microvascular integrity and myocardial viability in patients with reperfused anterior wall myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 1999;33(3):654-60.
69. Kitakaze M, Asakura M, Kim J, et al. Human atrial natriuretic peptide and nicorandil as adjuncts to reperfusion treatment for acute myocardial infarction (J-WIND): two randomised trials. *Lancet.* 2007;370(9597):1483-93.
70. Ross AM, Gibbons RJ, Stone GW, et al. A randomized, double-blinded, placebo-controlled multicenter trial of adenosine as an adjunct to reperfusion in the treatment of acute myocardial infarction (AMISTAD-II). *J Am Coll Cardiol.* 2005;45(11):1775-80.
71. Kim JS, Kim J, Choi D, et al. Efficacy of high-dose atorvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention in ST-segment elevation myocardial infarction: the STATIN STEMI trial. *JACC Cardiovasc Interv.* 2010;3(3):332-9.
72. Selker HP, Beshansky JR, Sheehan PR, et al. Out-of-hospital administration of intravenous glucose-insulin-potassium in patients with suspected acute coronary syndromes: the IMMEDIATE randomized controlled trial. *Jama.* 2012;307(18):1925-33.
73. Piot C, Croisille P, Staat P, et al. Effect of cyclosporine on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2008;359(5):473-81.
74. Schaller S, Paradis S, Ngoh GA, et al. TRO40303, a new cardioprotective compound, inhibits mitochondrial permeability transition. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010;333(3):696-706.
75. Rationale and design of the 'MITOCARE' Study: a phase II, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled study to assess the safety and efficacy of TRO40303 for the reduction of reperfusion injury in patients undergoing percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Cardiology.* 2012;123(4):201-7.
76. Chiari P, Angoulvant D, Mewton N, et al. Cyclosporine protects the heart during aortic valve surgery. *Anesthesiology.* 2014;121(2):232-8.
77. Hausenloy D, Kunst G, Boston-Griffiths E, et al. The effect of cyclosporin-A on peri-operative myocardial injury in adult patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a randomised controlled clinical trial. *Heart.* 2014;100(7):544-9.
78. Hausenloy DJ, Yellon DM. Reperfusion injury salvage kinase signalling: taking a RISK for cardioprotection. *Heart Fail Rev.* 2007;12(3-4):217-34.
79. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: results of a multicenter, randomized, placebo-controlled trial: the Acute Myocardial Infarction Study of ADenosine (AMISTAD) trial. *J Am Coll Cardiol.* 1999;34(6):1711-20.
80. Marzilli M, Orsini E, Marraccini P, et al. Beneficial effects of intracoronary adenosine as an adjunct to primary angioplasty in acute myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101(18):2154-9.
81. Desmet W, Bogaert J, Dubois C, et al. High-dose intracoronary adenosine for myocardial salvage in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2011;32(7):867-77.
82. Bernink FJ, Timmers L, Beek AM, et al. Progression in attenuating myocardial reperfusion injury: an overview. *Int J Cardiol.* 2014;170(3):261-9.
83. Mangano DT, Miao Y, Tudor IC, et al. Post-reperfusion myocardial infarction: long-term survival improvement using adenosine regulation with acadesine. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(1):206-14.

84. Du L, Gao ZG, Nithipatikom K, et al. Protection from myocardial ischemia/reperfusion injury by a positive allosteric modulator of the A(3) adenosine receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2012;340(1):210-7.
85. Chaudhuri A, Janicke D, Wilson M, et al. Effect of modified glucose-insulin-potassium on free fatty acids, matrix metalloproteinase, and myoglobin in ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 2007;100(11):1614-8.
86. Bose AK, Mocanu MM, Carr RD, et al. Glucagon-like peptide 1 can directly protect the heart against ischemia/reperfusion injury. *Diabetes*. 2005;54(1):146-51.
87. Nikolaidis LA, Mankad S, Sokos GG, et al. Effects of glucagon-like peptide-1 in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction after successful reperfusion. *Circulation*. 2004;109(8):962-5.
88. Read PA, Hoole SP, White PA, et al. A pilot study to assess whether glucagon-like peptide-1 protects the heart from ischemic dysfunction and attenuates stunning after coronary balloon occlusion in humans. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4(3):266-72.
89. Hausenloy DJ, Whittington HJ, Wynne AM, et al. Dipeptidyl peptidase-4 inhibitors and GLP-1 reduce myocardial infarct size in a glucose-dependent manner. *Cardiovasc Diabetol*. 2013;12:154.
90. Timmers L, Henriques JP, de Kleijn DP, et al. Exenatide reduces infarct size and improves cardiac function in a porcine model of ischemia and reperfusion injury. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(6):501-10.
91. Woo JS, Kim W, Ha SJ, et al. Cardioprotective effects of exenatide in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: results of exenatide myocardial protection in revascularization study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(9):2252-60.
92. Lonborg J, Kelbaek H, Vejstrup N, et al. Exenatide reduces final infarct size in patients with ST-segment-elevation myocardial infarction and short-duration of ischemia. *Circ Cardiovasc Interv*. 2012;5(2):288-95.
93. Lonborg J, Vejstrup N, Kelbaek H, et al. Impact of acute hyperglycemia on myocardial infarct size, area at risk, and salvage in patients with STEMI and the association with exenatide treatment: results from a randomized study. *Diabetes*. 2014;63(7):2474-85.
94. Bernink FJ, Timmers L, Diamant M, et al. Effect of additional treatment with EXenatide in patients with an Acute Myocardial Infarction: the EXAMI study. *Int J Cardiol*. 2013;167(1):289-90.
95. Hayashi M, Tsutamoto T, Wada A, et al. Intravenous atrial natriuretic peptide prevents left ventricular remodeling in patients with first anterior acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37(7):1820-6.
96. Kasama S, Furuya M, Toyama T, et al. Effect of atrial natriuretic peptide on left ventricular remodelling in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2008;29(12):1485-94.
97. Wakui S, Sezai A, Tenderich G, et al. Experimental investigation of direct myocardial protective effect of atrial natriuretic peptide in cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2010;139(4):918-25.
98. Kuga H, Ogawa K, Oida A, et al. Administration of atrial natriuretic peptide attenuates reperfusion phenomena and preserves left ventricular regional wall motion after direct coronary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circ J*. 2003;67(5):443-8.
99. Sezai A, Hata M, Wakui S, et al. Efficacy of continuous low-dose hANP administration in patients undergoing emergent coronary artery bypass grafting for acute coronary syndrome. *Circ J*. 2007;71(9):1401-7.

100. Penna C, Settanni F, Tullio F, et al. GH-releasing hormone induces cardioprotection in isolated male rat heart via activation of RISK and SAFE pathways. *Endocrinology*. 2013;154(4):1624-35.

Agradecimentos

De seguida agradeço o contributo de um conjunto de pessoas, sem as quais esta tese jamais poderia ter existido:

Ao Doutor Manuel Joaquim Lopes Vaz da Silva, pelo tempo que despendeu em prole desta tese, orientando-a de forma magnífica, e pelos seus ensinamentos que sempre foram inspiradores e começaram muito antes do início deste trabalho.

À minha namorada, Andreia Martins, pelo contributo indispensável na correção final do texto e, mais do que isso, por me escutar pacientemente durante intermináveis horas, não só no decurso do trabalho, mas muito antes de ele ter qualquer forma.

A um grande grupo de indivíduos que contribuíram para este projeto, ainda que indiretamente, por culpa da paixão pelo ensino e pela medicina. As competências e conhecimentos que me transmitiram ao longo dos anos foram e são imprescindíveis.

Anexos

Normas de publicação da Revista Portuguesa de Cardiologia

A Revista Portuguesa de Cardiologia, órgão oficial da Sociedade Portuguesa de Cardiologia, é uma publicação científica internacional destinada ao estudo das doenças cardiovasculares.

Publica artigos em português na sua edição em papel e em português e inglês na sua edição online, sobre todas as áreas da Medicina Cardiovascular. Se os artigos são publicados apenas em inglês, esta versão surgirá simultaneamente em papel e online. Inclui regularmente artigos originais sobre investigação clínica ou básica, revisões temáticas, casos clínicos, imagens em cardiologia, comentários editoriais e cartas ao editor. Para consultar as edições online deverá aceder através do link www.revportcardiol.org.

Todos os artigos são avaliados antes de serem aceites para publicação por peritos designados pelos Editores (peer review). A submissão de um artigo à Revista Portuguesa de Cardiologia implica que este nunca tenha sido publicado e que não esteja a ser avaliado para publicação noutra revista.

Os trabalhos submetidos para publicação são propriedade da Revista Portuguesa de Cardiologia e a sua reprodução total ou parcial deverá ser convenientemente autorizada. Todos os autores deverão enviar a Declaração de Originalidade, conferindo esses direitos à RPC, na altura em que os artigos são aceites para publicação.

Envio de manuscritos

Os manuscritos para a Revista Portuguesa de Cardiologia são enviados através do link <http://www.ees.elsevier.com/repc>. Para enviar um manuscrito, é apenas necessário aceder ao referido link e seguir todas as instruções que surgem.

Responsabilidades Éticas

Os autores dos artigos aceitam a responsabilidade definida pelo Comité Internacional dos Editores das Revistas Médicas (consultar www.icmje.org).

Os trabalhos submetidos para publicação na Revista Portuguesa de Cardiologia devem respeitar as recomendações internacionais sobre investigação clínica (Declaração de Helsínquia da Associação Médica Mundial, revista recentemente) e com animais de laboratório (Sociedade Americana de Fisiologia). Os estudos aleatorizados deverão seguir as normas CONSORT.

Informação sobre autorizações

A publicação de fotografias ou de dados dos doentes não devem identificar os mesmos. Em todos os casos, os autores devem apresentar o consentimento escrito por parte do doente que autorize a sua publicação, reprodução e divulgação em papel e na Revista Portuguesa de Cardiologia. Do mesmo modo os autores são responsáveis por obter as respectivas autorizações para reproduzir na Revista Portuguesa de Cardiologia todo o material (texto, tabelas ou figuras) previamente publicado. Estas autorizações devem ser solicitadas ao autor e à editora que publicou o referido material.

Conflito de interesses

Cada um dos autores deverá indicar no seu artigo se existe ou não qualquer tipo de Conflito de Interesses.

Declaração de originalidade

O autor deverá enviar uma declaração de originalidade. Ver anexo I

Protecção de dados

Os dados de carácter pessoal que se solicitam vão ser tratados num ficheiro automatizado da Sociedade Portuguesa de Cardiologia (SPC) com a finalidade de gerir a publicação do seu artigo na Revista Portuguesa de Cardiologia (RPC). Salvo indique o contrário ao enviar o artigo, fica expressamente autorizado que os dados referentes ao seu nome, apelidos, local de trabalho e correio electrónico sejam publicados na RPC, bem como no portal da SPC (www.spc.pt) e no portal online www.revportcardiol.org, com o intuito de dar a conhecer a autoria do artigo e de possibilitar que os leitores possam comunicar com os autores.

INSTRUÇÕES AOS AUTORES

Todos os manuscritos deverão ser apresentados de acordo com as normas de publicação. Pressupõe-se que o primeiro autor é o responsável pelo cumprimento das normas e que os restantes autores conhecem, participam e estão de acordo com o conteúdo do manuscrito.

NOTA IMPORTANTE! Para que se possa iniciar o processo de avaliação, o documento com o corpo do artigo deverá incluir todos os elementos que fazem parte do artigo: Títulos em português e em inglês; autores; proveniência; palavras-chave e keywords; Resumos em português e em inglês; Corpo do artigo, incluindo as tabelas; bibliografia; legendas das figuras e das tabelas.

1. Artigos Originais

Apresentação do documento:

- Com espaço duplo, margens de 2,5 cm e páginas numeradas.
- Não deverão exceder 5.000 palavras, contadas desde a primeira à última página, excluindo as tabelas.
- Consta de dois documentos: primeira página e manuscrito
- O manuscrito deve seguir sempre a mesma ordem: a) resumo estruturado em português e palavras-chave; b) resumo estruturado em inglês e palavras-chave; c) quadro de abreviaturas em português e em inglês; d) texto; e) bibliografia; f) legendas das figuras; g) tabelas (opcional) e h) figuras (opcional)-

Primeira página

Título completo (menos de 150 caracteres) em português e em inglês.

Nome e apelido dos autores pela ordem seguinte: nome próprio, seguido do apelido (pode conter dois nomes)

Proveniência (Serviço, Instituição, cidade, país) e financiamento caso haja.

Endereço completo do autor a quem deve ser dirigida a correspondência, fax e endereço electrónico.

Faz-se referência ao número total de palavras do manuscrito (excluindo as tabelas).

Resumo estruturado

O resumo, com um máximo de 250 palavras, está dividido em quatro partes: a) Introdução e objectivos; b) Métodos; c) Resultados e d) Conclusões.

Deverá ser elucidativo e não inclui referências bibliográficas nem abreviaturas (excepto as referentes a unidades de medida).

Inclui no final três a dez palavras-chave em português e em inglês. Deverão ser preferencialmente seleccionadas a partir da lista publicada na Revista Portuguesa de Cardiologia, oriundas do Medical Subject Headings (MeSH) da National Library of Medicine, disponível em: www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.html.

O resumo e as palavras-chave em inglês devem ser apresentados da mesma forma.

Texto

Deverá conter as seguintes partes devidamente assinaladas: a) Introdução; b) Métodos; c) Resultados; d) Discussão e e) Conclusões. Poderá utilizar subdivisões adequadamente para organizar cada uma das secções.

As abreviaturas das unidades de medida são as recomendadas pela RPC (ver Anexo II).

Os agradecimentos situam-se no final do texto.

Bibliografia

As referências bibliográficas deverão ser citadas por ordem numérica no formato 'superscript', de acordo com a ordem de entrada no texto.

As referências bibliográficas não incluem comunicações pessoais, manuscritos ou qualquer dado não publicado. Todavia podem estar incluídos, entre parêntesis, ao longo do texto.

São citados abstracts com menos de dois anos de publicação, identificando-os com [abstract] colocado depois do título.

As revistas médicas são referenciadas com as abreviaturas utilizadas pelo Index Medicus: List of Journals Indexed, tal como se publicam no número de Janeiro de cada ano. Disponível em: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/citmatch_help.html#journalLists.

O estilo e a pontuação das referências deverão seguir o modelo Vancouver 3.

Revista médica: Lista de todos os autores. Se o número de autores for superior a três, incluem-se os três primeiros, seguidos da abreviatura latina et al. Exemplo:

17. Sousa PJ, Gonçalves PA, Marques H et al. Radiação na AngioTC cardíaca; preditores de maior dose utilizada e sua redução ao longo do tempo. Rev Port cardiol, 2010; 29:1655-65

Capítulo em livro: Autores, título do capítulo, editores, título do livro, cidade, editora e páginas. Exemplo:

23. Nabel EG, Nabel GJ. Gene therapy for cardiovascular disease. En: Haber E, editor. Molecular cardiovascular medicine. New York: Scientific American 1995. P79-96.

Livro: Cite as páginas específicas. Exemplo:

30. Cohn PF. Silent myocardial ischemia and infarction. 3rd ed. New York: Mansel Dekker; 1993. P. 33.

Material electrónico: Artigo de revista em formato electrónico. Exemplo:

Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts it an advisory role. Am J Nurs. [serie na internet.] 2002 Jun citado 12 Ago 2002; 102(6): [aprox. 3] p. Disponível em: <http://www.nursingworld.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>

A Bibliografia será enviada como texto regular; nunca como nota de rodapé. Não se aceitam códigos específicos dos programas de gestão bibliográfica.

I. Figuras

As figuras correspondentes a gráficos e desenhos são enviadas no formato TIFF ou JPEG de preferência, com uma resolução nunca inferior a 300 dpi e utilizando o negro para linhas e texto. São alvo de numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

• A grafia, símbolos, letras, etc, deverão ser enviados num tamanho que,

ao ser reduzido, os mantenha claramente legíveis. Os detalhes especiais deverão ser assinalados com setas contrastantes com a figura.

• As legendas das figuras devem ser incluídas numa folha aparte. No final devem ser identificadas as abreviaturas empregues por ordem alfabética.

• As figuras não podem incluir dados que dêem a conhecer a proveniência do trabalho ou a identidade do paciente. As fotografias das pessoas devem ser feitas de maneira que estas não sejam identificadas ou incluir-se-á o consentimento por parte da pessoa fotografada.

Tabelas

São identificadas com numeração árabe de acordo com a ordem de entrada no texto.

Cada tabela será escrita a espaço duplo numa folha aparte.

• Incluem um título na parte superior e na parte inferior são referidas as abreviaturas por ordem alfabética.

• O seu conteúdo é auto-explicativo e os dados que incluem não figuram no texto nem nas figuras.

2. Artigos de Revisão

Nº máximo de palavras do artigo sem contar com o resumo e quadros- 5.000

Nº máximo de palavras do Resumo - 250

Nº máximo de Figuras - 10

Nº máximo de quadros - 10

Nº máximo de ref. bibliográficas - 100

3. Cartas ao Editor

Devem ser enviadas sob esta rubrica e referem-se a artigos publicados na Revista. Serão somente consideradas as cartas recebidas no prazo de oito semanas após a publicação do artigo em questão.

• Com espaço duplo, com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês), os autores (máximo quatro), proveniência, endereço e figuras devem ser especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

• Não podem exceder as 800 palavras.

• Podem incluir um número máximo de duas figuras. As tabelas estão excluídas.

4. Casos Clínicos

Devem ser enviados sob esta rubrica.

• A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês) não deve exceder 10 palavras

Os autores (máximo oito) proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

O texto explicativo não pode exceder 3.000 palavras e contem informação de maior relevância. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

Contêm um número máximo de 4 figuras e pode ser enviado material suplementar, como por exemplo vídeos clips.

5. Imagens em Cardiologia

• A espaço duplo com margens de 2,5 cm.

• O título (em português e em inglês) não deve exceder oito palavras

• Os autores (máximo seis), proveniência, endereço e figuras serão especificados de acordo com as normas anteriormente referidas para os artigos originais.

• O texto explicativo não pode exceder as 250 palavras e contem informação de maior relevância, sem referências bibliográficas. Todos os símbolos que possam constar nas imagens serão adequadamente explicados no texto.

• Contêm um número máximo de quatro figuras.

6. Material adicional na WEB

A Revista Portuguesa de Cardiologia aceita o envio de material electrónico adicional para apoiar e melhorar a apresentação da sua investigação científica. Contudo, unicamente se considerará para publicação o material electrónico adicional directamente relacionado com o conteúdo do artigo e a sua aceitação final dependerá do critério do Editor. O material adicional aceite não será traduzido e publicar-se-á electronicamente no formato da sua recepção.

Para assegurar que o material tenha o formato apropriado recomendamos o seguinte:

	Formato	Extensão	Detalhes
Texto	Word	.doc ou docx	Tamanho máximo 300 Kb
Imagem	TIFF	.tif	Tamanho máximo 10MB
Audio	MP3	.mp3	Tamanho máximo 10MB
Video	WMV	.wmv	Tamanho máximo 30MB

ANEXO I

DECLARAÇÃO

Declaro que autorizo a publicação do manuscrito:

Ref.^a

Título

.....

.....

do qual sou autor ou c/autor.

Declaro ainda que presente manuscrito é original, não foi objecto de qualquer outro tipo de publicação e cedo a inteira propriedade à Revista Portuguesa de Cardiologia, ficando a sua reprodução, no todo ou em parte, dependente de prévia autorização dos editores.

Nome dos autores:

.....

.....

Assinaturas:

Os autores deverão submeter o material no formato electrónico através do EES como arquivo multimédia juntamente com o artigo e conceber um título conciso e descritivo para cada arquivo.

Do mesmo modo, este tipo de material deverá cumprir também todos os requisitos e responsabilidades éticas gerais descritas nessas normas.

O Corpo Redactorial reserva-se o direito de recusar o material electrónico que não julgue apropriado.

ANEXO II

Símbolos, abreviaturas de medidas ou estatística

Designação	Português	Inglês
------------	-----------	--------

Ampere	A	A
Ano	ano	yr
Centímetro quadrado	cm ²	cm ²
Contagens por minuto	cpm	cpm
Contagens por segundo	cps	cps
Curie	Ci	Ci
Electrocardiograma	ECG	ECG
Equivalente	Eq	Eq
Grau Celsius	°C	°C
Grama	g	g
Hemoglobina	Hb	Hb
Hertz	Hz	Hz
Hora	h	h
Joule	J	J
Litro	L ou l	l ou L
Metro	m	m
Minuto	min	min
Molar	M	M
Mole	mol	mol
Normal (concentração)	N	N
Ohm	Ω	Ω
Osmol	osmol	osmol
Peso	peso	WT
Pressão parcial de CO ₂	pCO ₂	pCO ₂
Pressão parcial de O ₂	pO ₂	pO ₂
Quilograma	kg	kg
Segundo	s	sec
Semana	Sem	Wk
Sistema nervoso central	SNC	CNS
Unidade Internacional	UI	IU
Volt	V	V
Milivolt	mV	mV
Volume	Vol	Vol
Watts	W	W

Estatística:

Coefficiente de correlação	r	r
Desvio padrão (standard)	DP	SD
Erro padrão (standard) da média	EPM	SEM
Graus de liberdade	gl	df
Média	X	X
Não significativa	NS	NS
Número de observações	n	n
Probabilidade	p	p
Teste «t» de Student	teste t	t test