

## A Disponibilidade de Óxido Nítrico Local é Responsável por Resgate Miocárdio após Pré-Condicionamento Remoto?

*Is Local Nitric Oxide Availability Responsible for Myocardial Salvage after Remote Preconditioning?*

Esbeidira Aranet Arroyo-Martínez<sup>1</sup>, Alejandra Meaney<sup>1</sup>, Gabriela Gutiérrez-Salmeán<sup>2</sup>, Juan Miguel Rivera-Capello<sup>1</sup>, Vidal González-Coronado<sup>1</sup>, Alejandro Alcocer-Chauvet<sup>1</sup>, Genaro Castillo<sup>1</sup>, Nayelli Nájera<sup>3</sup>, Guillermo Ceballos<sup>3\*</sup>, Eduardo Meaney<sup>3\*</sup>

Unidade Cardiovascular - Hospital "Primer de Octubre"; Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade Anáhuac México Norte<sup>2</sup>; Laboratório de Investigação Integral Cardiometafólica. Seção de Estudos de Pós-graduação e Investigação. Escola Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional<sup>3</sup>, Cidade do México - México

\*Drs. Meaney e Ceballos são co-autores deste estudo

### Resumo

**Fundamento:** Pré-condicionamento isquêmico remoto (PCIR) é uma terapia para proteção miocárdica, em particular quando é possível prever eventos isquêmicos. Embora vários mecanismos hipotéticos tenham sido propostos, nenhuma via molecular definitiva foi elucidada.

**Objetivo:** Avaliar o efeito da oclusão da circulação braquial com manguito sobre a tolerância à isquemia miocárdica, a necrose miocárdica e a biodisponibilidade de óxido nítrico (NO) em pacientes com cardiopatia isquêmica submetidos a intervenção coronariana percutânea (ICP) eletiva.

**Métodos:** 46 pacientes foram alocados aleatoriamente em dois grupos: controle e PCIR antes da ICP. Análise eletrocardiográfica e medidas da concentração sérica de troponina I (cTn-I) foram realizadas na condição basal e 24 horas após ICP. Coletou-se amostra de sangue da placa aterosclerótica para determinar os níveis de nitratos e nitritos.

**Resultados:** O PCIR aumentou a disponibilidade de NO na artéria coronária que recebeu o *stent*. O grupo controle apresentou um aumento pequeno, mas significativo, da cTn-I, que permaneceu inalterada no grupo pré-condicionado. O pré-condicionamento não só preservou, como melhorou o somatório de ondas R no eletrocardiograma.

**Conclusões:** O PCIR induziu aumento intracoronariano dos níveis de NO associado com redução do dano miocárdico (medido como aumento da cTn-I) e com aumento do somatório de ondas R, sugerindo melhora miocárdica após ICP eletiva. (Arq Bras Cardiol. 2016; 107(2):154-162)

**Palavras-chave:** Óxido Nítrico; Isquemia; Precondicionamento Isquêmico Miocárdico; Reperusão.

### Abstract

**Background:** Remote ischemic preconditioning (RIPC) represents an attractive therapy for myocardial protection, particularly when ischemic events can be anticipated. Although several hypothetical mechanisms have been proposed, no definite molecular pathways have been elucidated.

**Objective:** We evaluated the effect of brachial circulation cuff occlusion on myocardial ischemic tolerance, necrosis, and nitric oxide (NO) in patients with ischemic heart disease undergoing elective percutaneous coronary interventions (PCI).

**Methods:** 46 patients were randomly allocated into two groups: control and RIPC before PCI procedures. Electrocardiographic analysis, serum concentrations of troponin I (cTn-I) were measured at baseline and 24 hours after PCI. A blood sample from the atherosclerotic plaque was drawn to determine nitrate and nitrites.

**Results:** RIPC increased the availability of NO in the stented coronary artery. Control patients presented a small but significant increase in cTn-I, whilst it remained unchanged in preconditioned group. The preconditioning maneuver not only preserved but also enhanced the sum of R waves.

**Conclusions:** RIPC induced an intracoronary increase of NO levels associated with a decrease in myocardial damage (measured as no increase in cTn-I) with electrocardiographic increases in the sum of R waves, suggesting an improved myocardium after elective PCI. (Arq Bras Cardiol. 2016; 107(2):154-162)

**Keywords:** Nitric Oxide; Ischemia; Ischemic Preconditioning, Myocardial; Reperfusion.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

**Correspondência:** Eduardo Meaney •

Laboratorio de Investigación Integral Cardiometafólica. Sección de Estudios de Posgrado e Investigación. Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional. Plan de San Luis y Díaz Mirón s/n. Col. Casco de Santo Tomás. Del. Miguel Hidalgo. Postal Code: 11340. México, DF - México.

E-mail: lalitimini@prodigy.net.mx

Artigo recebido em 22/10/15; revisado em 12/11/15; aceito em 06/05/16.

DOI: 10.5935/abc.20160100

## Introdução

Pré-condicionamento isquêmico é um fenômeno bem conhecido, em que curtos períodos de isquemia-reperusão determinam um aumento da tolerância a subsequentes episódios de isquemia sustentada.<sup>1</sup> Pré-condicionamento isquêmico remoto (PCIR), i.e., aumento da tolerância miocárdica à injúria isquêmica após curtos episódios de isquemia-reperusão induzidos à distância em um tecido ou órgão, demonstrou conspícua capacidade contra isquemia e atordoamento, assim como para limitar o tamanho do infarto em modelos animais e humanos.<sup>2-5</sup>

Embora as vias moleculares específicas subjacentes ainda não sejam bem conhecidas, há algumas hipóteses para explicar os mecanismos desse intrigante fenômeno. Premissas de respostas protetoras neurais [bradicinina e óxido nítrico (NO)], humorais (adenosina e angiotensina) e sistêmicas (supressão de inflamação e apoptose), agindo isoladamente ou em combinação, foram propostas como possíveis mecanismos de PCIR.<sup>6</sup> A implementação pragmática de técnicas de PCIR revela um promissor campo terapêutico para resgate e proteção do miocárdio, em particular quando eventos isquêmicos podem ser previstos, como na intervenção coronariana percutânea (ICP) ou na cirurgia de revascularização miocárdica.

Foi proposto que o NO desempenhe papel relevante e possivelmente decisivo na proteção do miocárdio. Entretanto, até onde sabemos, a medida direta de NO no território coronariano, após condicionamento periférico e logo antes de reperusão, não foi avaliada.

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da oclusão da circulação braquial com manguito sobre a tolerância à isquemia miocárdica, a necrose do miocárdio, a biodisponibilidade de NO no sítio da angioplastia e a função renal em pacientes com cardiopatia isquêmica submetidos a ICP eletiva.

## Métodos

Com base no estudo de Hoole,<sup>7</sup> no qual a troponina cardíaca I (cTn-I) sérica aumentou mais de 30% em pacientes do grupo controle em comparação àqueles submetidos a PCIR 24 horas após ICP eletiva, estimou-se um tamanho amostral de 14 pacientes para obtenção de poder de 80% e confiança de 95%. Prevendo uma perda de 20% e redução de 15% na cTn-I elevada, 46 pacientes (23 em cada grupo: controle e PCIR) foram reunidos.

O Protocolo do estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da instituição, tendo a pesquisa sido conduzida de acordo com a Declaração de Helsinque, o Manual de Boas Práticas Clínicas e o Regulamento Federal do México.<sup>8,9</sup> Foram incluídos pacientes de todos os sexos, com idade  $\geq 18$  anos, que assinaram o termo de consentimento livre e informado, que apresentavam evidência clínica documentada de cardiopatia isquêmica, que aceitaram submeter-se a ICP e apresentavam concentração sérica de cTn-I inferior a três vezes o percentil 99 do valor de referência. Os critérios de exclusão consistiram em: pacientes com síndrome coronariana aguda ou instabilidade hemodinâmica; pacientes que necessitassem de angioplastia imediata e implantação de *stent*; grávidas ou lactantes; e pacientes em uso de ativadores dos canais de potássio, como glibenclamida ou nicorandil.

Todos os pacientes foram medicados com aspirina (300 mg) e clopidogrel (600 mg) no dia anterior à ICP, e todos os selecionados concluíram o estudo.

Uma hora antes da ICP, realizou-se eletrocardiograma (ECG) de 12 derivações, que foi repetido 24 horas após a ICP. A análise eletrocardiográfica compreendeu a quantificação do desvio de ST positivo ou negativo, novas ondas Q, e a ocorrência de bloqueio de ramo esquerdo (BRE) súbito. Realizou-se o somatório de ondas R ( $\Sigma R$ ), em mm, nas derivações precordiais e em todas as 12 derivações.

Além disso, coletou-se uma amostra de sangue venoso periférico para medir as concentrações séricas de cTn-I usando imunoensaio-anticorpo monoclonal com um analisador hematológico Bayer ADVIA 60, com valor de percentil 99 de 0,04 ng/ml. No nosso laboratório, o coeficiente de variação do ensaio é menor do que 10%.<sup>10</sup> Mediu-se cTn-I na condição basal e 24 horas após ICP.

Após recrutamento, os pacientes foram alocados aleatoriamente em dois grupos: controle e PCIR. Nesse último grupo, 1 hora antes da ICP, realizou-se a manobra de PCIR com os pacientes deitados em decúbito dorsal. O PCIR foi realizado no braço esquerdo, com três ciclos de oclusão da circulação braquial com manguito, elevando-se a pressão para 200 mmHg por 5 minutos, seguidos por um período de 5 minutos de deflação do manguito. Em seguida, todos os pacientes foram submetidos a ICP padrão, incluindo a implantação de *stent* em todas as lesões coronarianas suscetíveis e acessíveis. Os vários cardiologistas intervencionistas envolvidos neste estudo foram cegados para a manobra de pré-condicionamento. Antes da implantação do *stent*, a ponta do cateter foi colocada no sítio da placa aterosclerótica que receberia o *stent*, sendo coletada amostra de sangue para dosagem de nitratos e nitritos (NOx), produtos de degradação do NO, como medida indireta da disponibilidade daquele gás, um emblemático marcador de função endotelial. As concentrações dos metabólitos de NO foram medidas usando-se um *kit* enzimático colorimétrico comercialmente disponível (Cayman, Chemicals), conforme as instruções do fabricante. Determinou-se a densidade óptica a 540 nm. Como o NOx é excretado pelos rins, a taxa NOx/creatinina foi estimada para descartar a influência de qualquer comprometimento renal.

Quantificou-se a dor de angina experimentada durante a ICP com uma modificação da escala do *American College of Sports Medicine*<sup>11</sup> como se segue: grau 0 (sem dor ou qualquer desconforto); grau 1 (leve, quase imperceptível); grau 2 (moderada, desconfortável); grau 3 (intensa, muito desconfortável); e grau 4 (a dor mais intensa já experienciada).

## Mionecrose/infarto do miocárdio periprocedural

Considerou-se necrose do miocárdio quando a concentração sérica de cTn foi superior ao percentil 99 do valor de referência.<sup>10</sup> O diagnóstico de infarto do miocárdio, contudo, baseou-se nos critérios atualizados do documento da Sociedade Europeia de Cardiologia, da *American College of Cardiology Foundation*, da *American Heart Association* e da *World Heart Federation (ESC/ACCF/AQHA/WHF)* intitulado *Terceira Definição Universal de Infarto do Miocárdio*.<sup>12</sup> Tal consenso internacional de especialistas estabelece como biomarcador preferencial de

necrose a cTn e pelo menos um dos cinco critérios adicionais: sintomas de isquemia; novas alterações significativas da onda ST/T ou novo BRE; novas ondas Q patológicas; demonstração através de imagem de nova perda de miocárdio viável (ou nova anormalidade regional da motilidade da parede); e trombo intracoronariano identificado em angiografia ou necropsia. De acordo com aquele documento, considerou-se infarto do miocárdio periprocedural a elevação de cTn superior a cinco vezes o percentil 99 do valor de referência em pacientes com valores basais normais.

Pacientes que apresentaram complicações procedurais, como dissecação coronariana, arritmias periprocedurais prolongadas ou parada cardíaca, foram excluídos da análise. Portanto, apenas casos com angioplastia e implantação de *stent* completas e bem-sucedidas, tais como aqueles em que todas as lesões coronarianas relevantes e acessíveis foram tratadas, sem complicações, com completo ganho intraluminal e fluxo TIMI 3, foram considerados para análise.

A função renal foi estimada através da medida da creatinina sérica e da taxa de filtração glomerular (TFG) com a fórmula de *clearance* de creatinina de Cockcroft-Gault,<sup>13</sup> antes e depois da ICP:

$$TFG = [(140 - \text{idade}) \times \text{peso (kg)}] / (72 \times \text{creatinina sérica (mg/dl)}) \times (0,85 \text{ em mulheres}).$$

Os pacientes foram classificados nos cinco estágios de doença renal crônica (estágios I-V) de acordo com sua TFG (<15, 15-29, 30-59, 60-89 e >90 ml/min), que foi estimada antes da intervenção e 24 horas depois.

### Análise estatística

Todos os valores foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão. A distribuição normal de dados foi analisada com o teste de Kolmogorov-Smirnov, diferenças (antes vs. depois) nas variáveis contínuas foram avaliadas com o teste *t* de Student pareado, enquanto o teste *t* não pareado foi usado para avaliar as diferenças intergrupos e a porcentagem de alteração (deltas). As diferenças entre os dados categóricos, i.e. frequências e porcentagens, foram avaliadas com testes *z*. Um valor *p* < 0,05 foi considerado significativo. O programa Prism GraphPad® (GraphPad, San Diego, CA, EUA) foi usado na análise estatística.

### Resultados

Todos os pacientes recrutados completaram o protocolo do estudo. A Tabela 1 apresenta os dados demográficos e clínicos na condição basal. Os dois grupos foram semelhantes (não houve diferença estatística, *p* = *ns*) quanto a idade, distribuição de sexo, ocorrência de adiposidade, hipertensão e diabetes, infarto do miocárdio prévio e função renal. O grupo PCIR apresentou mais pacientes em uso de betabloqueadores (5 indivíduos) e estatinas (2 indivíduos, sem diferenças significativas), enquanto mais pacientes do grupo controle usavam insulina e metformina, a despeito da proporção de diabetes similar nos dois grupos. Bloqueadores de canais de cálcio e moduladores do eixo renina-angiotensina foram prescritos

em proporções similares nos dois grupos. Quantidades quase que indetectáveis de cTn foram identificadas em todos os pacientes, e nenhum apresentou anormalidades ST antes da intervenção.

### Dor anginosa durante ou após a ICP

Apenas um paciente em cada grupo apresentou angina (grau 4 nos dois casos) durante ou imediatamente após a angioplastia.

### Biodisponibilidade de NO

A Figura 1 mostra que a concentração de NOx no sangue coletado da artéria coronária a receber o *stent*, justo na proximidade da lesão aterosclerótica, foi significativamente maior nos pacientes pré-condicionados. Tal resultado indica que a manobra de PCIR aumentou a disponibilidade de NO na artéria coronária selecionada para receber o *stent*.

### Alterações na cTn-I

A Figura 2 mostra as alterações nas concentrações séricas de cTn-I nas condições basais e 24 horas após nos dois grupos do estudo. Pacientes do grupo controle apresentaram um pequeno, mas significativo, aumento na cTn-I. No entanto, o marcador permaneceu inalterado no grupo pré-condicionado.

### Alterações de ECG

Quatro pacientes controle e apenas um pré-condicionado apresentou elevação do segmento ST maior do que 1mV 24 horas após a ICP (diferença estatística não significativa de 17,3% vs. 4,3%). A Figura 3 mostra a porcentagem de alterações observadas no somatório de ondas R em todas as 12 derivações do ECG, e a Figura 4 exhibe as alterações apenas nas derivações precordiais.

A Tabela 2 mostra o efeito da ICP no somatório de ondas R nos pacientes controle, assim como o efeito da manobra de pré-condicionamento naquela variável.

Pode-se ver que a ICP teve um nítido efeito no somatório de ondas R, em todas as derivações e também nas precordiais. Em comparação, a manobra de PCIR não só preservou, como também melhorou, o somatório de ondas R. Todas essas mudanças nos grupos controle e PCIR apresentaram significado estatístico.

### Dados renais

A injeção de meio de contraste não diferiu entre os grupos ( $225,7 \pm 10,27$  e  $221,3 \pm 13,36$  ml, para os grupos controle e PCIR, respectivamente, *p* = 0,79). A Tabela 3 mostra o efeito da ICP na creatinina sérica e na TFG. No grupo controle, a creatinina aumentou 0,11 mg/dl (+8,6%), enquanto que, no grupo PCIR, o aumento da creatinina foi maior, 0,17 mg/dl (+17%). No entanto, a TFG caiu 6 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (-9,5%) nos pacientes controle, e 6,7 (-10,6%) nos pré-condicionados. Nenhuma dessas diferenças foi estatisticamente significativa.

Tabela 1 - Características demográficas e clínicas dos pacientes

Variável	Grupo controle (n=23)		Grupo pré-condicionamento (n=23)	
	x	DP	x	DP
Idade (anos)	66,1	11,3	63	6,9
Índice de massa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	26,8	4,2	27,7	4,5
	n	%	n	%
Masculino	15	65	16	69
Diabetes mellitus tipo 2	16	79	14	60,8
Hipertensão	19	83	21	91,3
<b>Tratamento farmacológico</b>				
Aspirina	23	100	23	100
Clopidogrel	23	100	23	100
Betabloqueadores	13	57	18	78
IECA	8	35	13	56
BRA	11	48	7	30,4
BCC	5	21,7	6	26
Estatinas	19	82,6	21	91,3
Insulina	5	22	4	17,3
Metformina	16	70	11	47,8
Infarto do miocárdio prévio	11	48	12	52
Elevação de ST (0,5-1 mV)	0	0	0	0
Troponina I basal <0,04 ng/ml	23	100	23	100
<b>TFG (ml/min/1,73m<sup>2</sup>)</b>				
< 15 (insuficiência renal, estágio V)	3	13	0	0
15-29 (redução severa da TFG, estágio IV)	4	17,3	3	13
30-59 (redução moderada da TFG, estágio III)	3	13	4	17,3
60-89 (redução leve da TFG, estágio II)	7	30,4	10	43
≥ 90 (TFG normal, estágio I)	6	26	6	26

DP: desvio padrão; TFG: taxa de filtração glomerular; IECA: inibidores da enzima de conversão da angiotensina; BRA: bloqueadores dos receptores da angiotensina II; BCC: bloqueadores dos canais de cálcio.

## Discussão

Os principais achados deste estudo mostraram que o PCIR induziu aumento intracoronariano dos níveis de NO, resultando em diminuição do dano do miocárdio (medido como ausência de aumento na cTn-I) com aumentos eletrocardiográficos no somatório de ondas R, sugerindo uma melhora do miocárdio após ICP eletiva.

Os mecanismos pelos quais repetidos episódios de isquemia-reperusão em um tecido ou órgão não cardíaco levam a subsequente proteção do miocárdio contra isquemia não são completamente conhecidos. O efeito de breve isquemia de membro foi estudada em animais e seres humanos.<sup>5</sup> O trabalho de Loukogeorgais et al.<sup>14</sup> demonstrou que a oclusão da circulação de um braço diminui a disfunção endotelial

no braço contralateral. Vários mecanismos hipotéticos foram propostos para explicar esse fenômeno, principalmente a hipótese neural e humoral. Um tecido remoto submetido a isquemia-reperusão deve produzir uma ou várias substâncias (adenosina, bradicinina, peptídeo relacionado ao gene da calcitonina, opioides endógenos) que podem estimular uma via neural eferente com resultados cardioprotetores ou, ao atravessar a corrente sanguínea, podem agir diretamente no endotélio das coronárias, induzindo uma resposta de preservação (revertendo a disfunção endotelial).<sup>6</sup> Outro mecanismo proposto foi a ativação do sistema enzimático das proteínas quinases ativadas por mitógenos (MAPK) p38, Erk1/2 e JNK no tecido remoto submetido a isquemia-reperusão, que pode exercer modificações positivas resultando em proteção contra isquemia no miocárdio distante.<sup>15</sup> Mais recentemente,

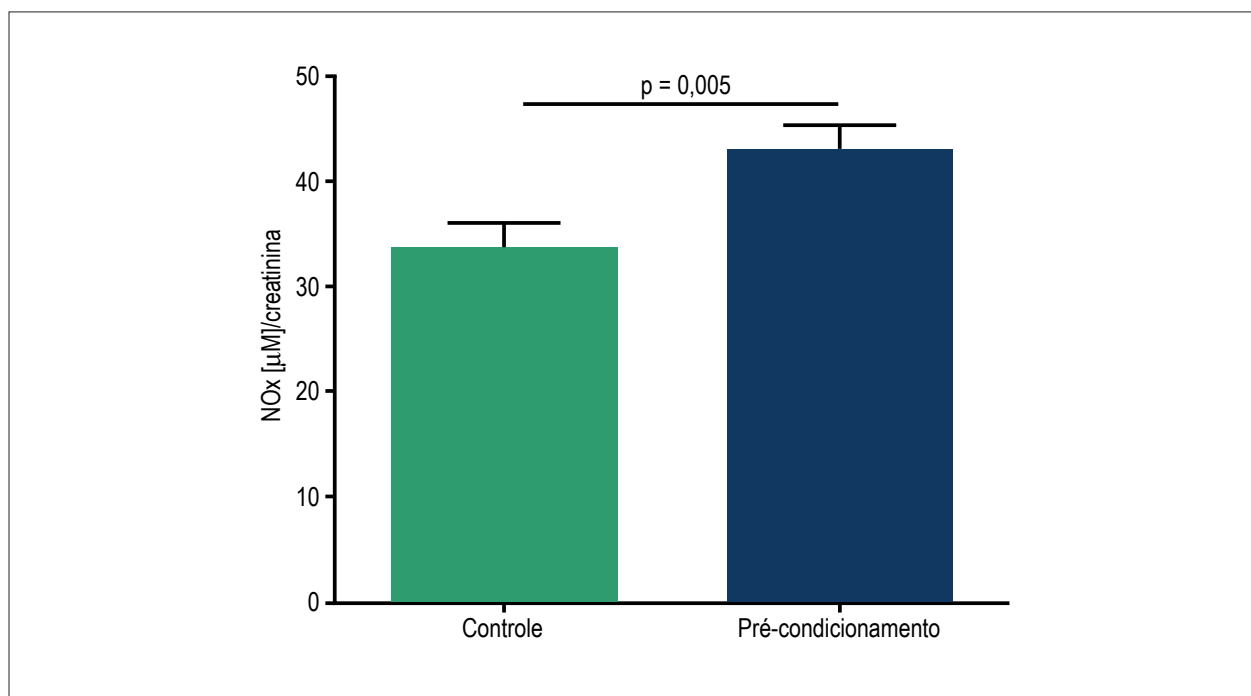


Figura 1 - Óxido nítrico local (NOx) corrigido para os níveis de creatinina nos grupos controle e pré-condicionamento. Dados expressos como médias  $\pm$  EMP.

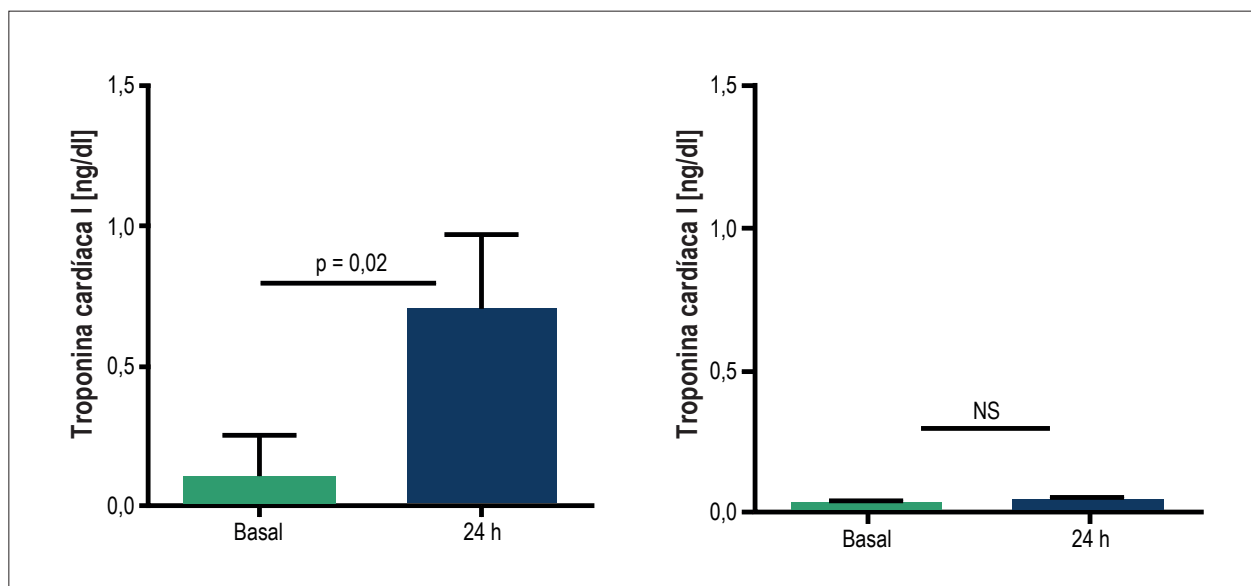


Figura 2 - Alterações nas concentrações séricas de troponina-I basal e 24 horas após intervenção coronariana percutânea nos grupos controle (esquerda) e pré-condicionamento (direita). Dados expressos como médias  $\pm$  EMP.

o papel do NO emergiu como mecanismo central para explicar a proteção contra isquemia, clássica ou remota. Há evidência a respeito da indução pelo PCIR de aumento da ativação da NO sintase endotelial (eNOS), mais do que aumento da expressão,<sup>16</sup> assim como aumento da produção de NO e seus produtos de oxidação, nitritos/nitratos. Em experimentos elegantes usando modelo microscópico de retalho de cremaster de ratos *in vivo*,

Küntschler et al.<sup>17</sup> demonstraram que o NO causou maior fluxo capilar e maior velocidade das células vermelhas em arteríolas e capilares, enquanto que nitro-L-arginina metil éster (L-NAME), um inibidor direto de NOS, inibe o pré-condicionamento. O NO, a molécula icônica de sinalização de função endotelial, exerce muitas ações biológicas que podem explicar seus efeitos cardioprotetores: modulação da excitabilidade; atenuação da

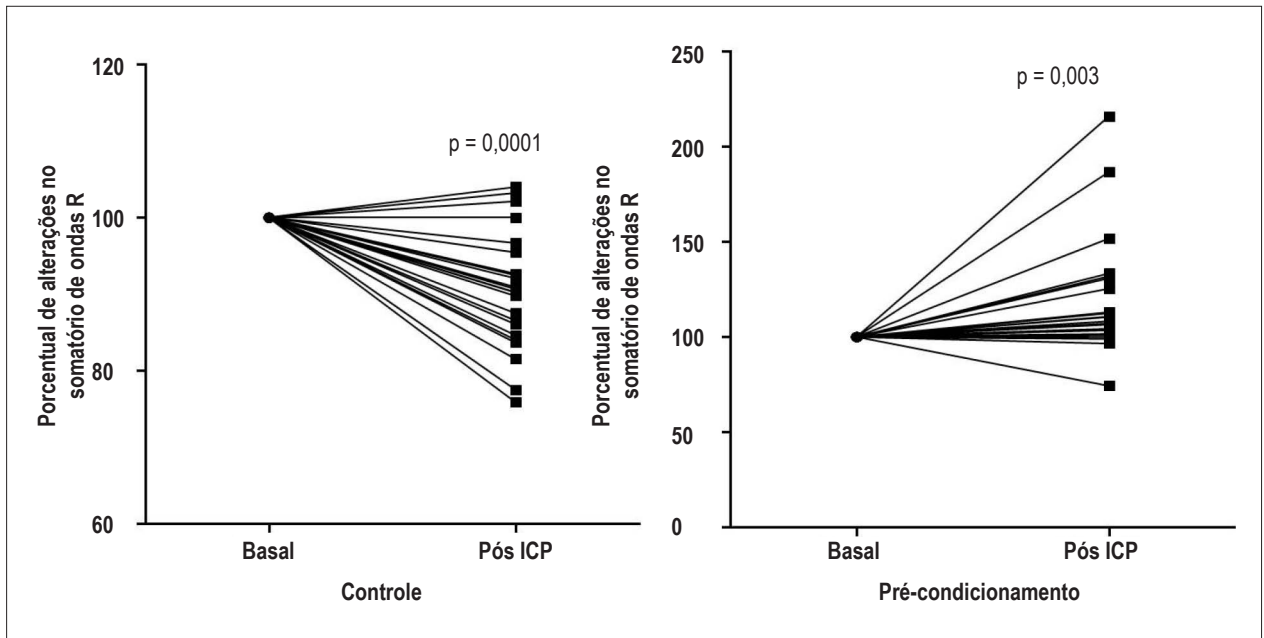


Figura 3 - Porcentual de alterações no somatório de ondas R em todas as derivações, da condição basal até 24 horas após intervenção coronariana percutânea (ICP) nos grupos controle (esquerda) e pré-condicionamento (direita).

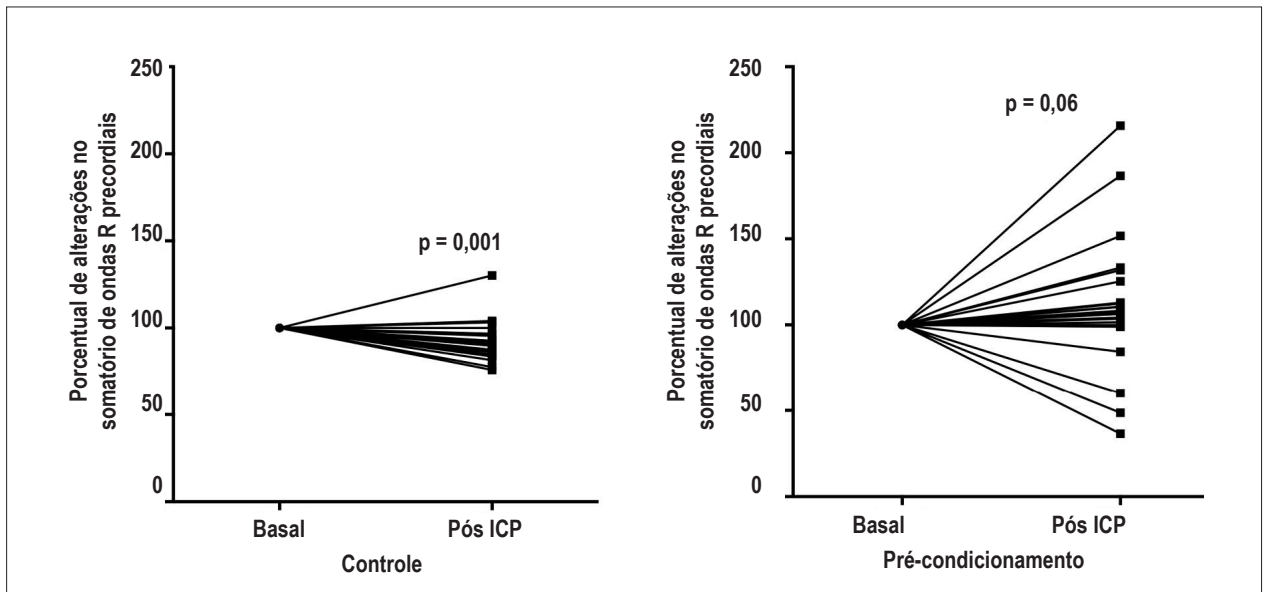


Figura 4 - Porcentual de alterações no somatório de ondas R nas derivações precordiais, da condição basal até 24 horas após intervenção coronariana percutânea (ICP) nos grupos controle (esquerda) e pré-condicionamento (direita).

resposta celular ao estresse; dilatação arteriolar e capilar; efeito antioxidante, anti-inflamatório, antifibrótico, antitrombótico e antiapoptótico. Além disso, o NO funciona como um mensageiro intracelular, uma molécula parácrina, um neurotransmissor, ou até como um hormônio com diferentes efeitos à distância, em geral benéficos.<sup>18</sup>

Embora nosso estudo tenha demonstrado um claro aumento nos níveis de NO (indiretamente medido através

de seus produtos de degradação, NO<sub>2</sub>/NO<sub>3</sub>) na vizinhança da placa aterosclerótica coronariana após PCIR, logo antes da angioplastia, as alterações metabólicas causadas pela manobra de pré-condicionamento não são a única fonte de produção de NO. Sabe-se hoje que o nitrito pode ser a fonte de NO principalmente em condições isquêmicas ou hipóxicas, além da via clássica da NO sintase.<sup>19</sup> Mesmo assim, a produção de NO através do fenômeno de pré-condicionamento é



Tabela 2 - Somatório das ondas R nos grupos controle e experimental

Somatório de ondas R total ( $\Sigma$ )					
Grupo controle, X $\pm$ DP, mm			Grupo pré-condicionamento, X $\pm$ DP, mm		
$\Sigma$ basal	$\Sigma$ pós ICP	Valor de p	$\Sigma$ basal	$\Sigma$ pós ICP	Valor de p
56,9 $\pm$ 13,9	51,3 $\pm$ 12,7	< 0,0001	53,3 $\pm$ 23,0	62,0 $\pm$ 22,4	0,006

Somatório de ondas R precordiais					
$\Sigma$ basal	$\Sigma$ pós ICP	Valor de p	$\Sigma$ basal	$\Sigma$ pós ICP	p valor
36,5 $\pm$ 21,8	32 $\pm$ 17,9	0,003	33,1 $\pm$ 18	37,3 $\pm$ 19,5	0,057

DP: desvio padrão; ICP: intervenção coronariana percutânea.

Tabela 3 - Creatinina sérica (Cr) e taxa de filtração glomerular (TFG) nos grupos controle e experimental antes e depois da intervenção coronariana percutânea (ICP)

Controle			Pré-condicionamento		
Cr basal mg/dl	Cr pós ICP mg/dl	Valor de p	Cr basal mg/dl	Cr pós ICP mg/dl	Valor de p
1,28 $\pm$ 0,63	1,39 $\pm$ 0,67	0,001	1,0 $\pm$ 0,32	1,17 $\pm$ 0,36	0,002
TFG ml/min/1,73m <sup>2</sup>			TFG ml/min/1,73m <sup>2</sup>		
Basal	Pós ICP		Basal	Pós ICP	
63 $\pm$ 26,5	57 $\pm$ 23,5	0,003	72,0 $\pm$ 21,1	64,4 $\pm$ 20,97	<0,0001

\*Não houve diferença significativa entre os grupos.

ainda uma explicação do resgate do miocárdio mostrado em nosso estudo (níveis séricos de cTn-I comparativamente mais baixos, e preservação ou ganho de ondas R no ECG após intervenção coronariana), pois o resgate foi visto em pacientes pré-condicionados, mas não naqueles do grupo controle.

A esse respeito, a sensibilidade dos atuais biomarcadores de necrose possibilita a detecção de diminuta necrose do miocárdio, aparentemente facilitando o diagnóstico dessa entidade clínica. Entretanto, os critérios para o diagnóstico de infarto do miocárdio e infarto do miocárdio periprocedural foram modificados várias vezes nos últimos anos, introduzindo considerável confusão no assunto.<sup>19</sup> De acordo com conceitos atuais, aumentos nos marcadores de necrose acima do percentil 99 do valor de referência são definidos como necrose do miocárdio ("mionecrose"), enquanto que um aumento de pelo menos cinco vezes do percentil 99 do valor de referência auxilia o diagnóstico de infarto do miocárdio.<sup>20</sup> Essa diferenciação diagnóstica graduada baseia-se no fato de que um pequeno aumento nos biomarcadores pode ser visto em múltiplas condições, como insuficiência cardíaca, miocardite, miocardiopatia, insuficiência renal, tromboembolismo pulmonar, arritmias rápidas ou lentas, hipertrofia ventricular, cardiotoxicidade (antraciclina), cirurgia e trauma cardíacos, anemia, choque e sepse.

A importância do infarto do miocárdio periprocedural ou mionecrose periprocedural reside na quantidade de miocárdio viável perdido durante a manipulação coronariana, e, por essa razão, parece razoável evitar ou pelo menos

limitar a ocorrência de lesão miocárdica e sua extensão. O infarto do miocárdio periprocedural é clinicamente menos relevante do que o infarto do miocárdio espontâneo, como demonstrado no estudo ACUITY,<sup>21</sup> no qual o primeiro foi associado com um risco relativo de mortalidade de 7,49, enquanto no segundo, não houve aumento de mortalidade.

Nosso estudo mostrou que houve uma perda definitiva de miocárdio periprocedural no grupo controle. Nesses pacientes, o valor médio de cTn-I aumentou sete vezes (de 0,1 para 0,7 ng/dl) da condição basal ao período pós intervenção, o que significou 17,5 vezes o percentil 99 do valor de referência de 0,04 ng/dl. Enquanto na condição basal 11 pacientes tinham valores de cTn-I maiores do que 0,04, depois da ICP, esse número aumentou para 19. Em comparação, no grupo PCI-R, os valores médios de cTn-I não excederam o percentil 99 do valor de referência tanto na condição basal quanto depois da ICP (de 0,02 para 0,04 ng/dl). Na condição basal, 8 pacientes tinham valores de cTn-I maiores do que 0,04, e após a ICP, apenas 9 exibiam um valor alto. Tais resultados chamam atenção para o resgate do miocárdio durante a ICP com o uso da manobra de pré-condicionamento de fácil realização, baixo custo e quase inofensiva.

Além disso, o efeito de preservação miocárdica do pré-condicionamento foi confirmado no nosso estudo com dados de ECG. O ECG é uma ferramenta diagnóstica consagrada pelo uso para reconhecimento clínico do infarto do miocárdio, sua localização topográfica,

estimativa de tamanho e prognóstico. Vários índices e sistemas de escore eletrocardiográfico foram desenvolvidos para refletir o estado funcional do ventrículo esquerdo na época anterior às técnicas de imagem aptas a estimar com muita acurácia as propriedades sistólica e diastólica do ventrículo esquerdo. No entanto, a correlação entre vários escores de ECG e fração de ejeção mostrou-se fraca.<sup>22</sup> Mais recentemente, na era da intervenção coronariana, o significado da evolução das voltagens da onda R em diferentes fases da isquemia e reperfusão miocárdica voltou a atrair atenção.<sup>23</sup> Na explicação eletrofisiológica clássica, células do miocárdio eletricamente ativadas geram potenciais de ação representados por vetores, cujas pontas frontais têm carga positiva. Células do miocárdio necrótico ou extremamente isquêmico não podem gerar tais forças elétricas. Vários estudos clínicos e experimentais mostraram que a amplitude da onda R decresce significativamente durante isquemia aguda, mas sua voltagem aumenta durante a reperfusão.<sup>23,24</sup> É provável que tal fenômeno indique que, por um tempo indeterminado, as células do miocárdio agredido pela isquemia não estão mortas, mas apenas em um estado crítico *pre-mortem* de extremo dano, mantendo apenas os sistemas básicos de suporte à vida. Mas, com o restabelecimento do fluxo, essas células do miocárdio isquêmico podem restaurar completamente sua vitalidade e funcionalidade. Foi descrito que, em seres humanos submetidos a angioplastia coronariana, durante breves episódios de isquemia causada por balão inflável, a amplitude da onda R aumenta significativamente em quase todas as derivações do ECG. Embora a real causa desse ganho de voltagem no somatório da onda R não tenha sido esclarecida de maneira convincente (talvez resulte de expansão da cavidade ventricular esquerda ou alterações de condução), de qualquer forma esse fenômeno acha-se associado com isquemia aguda, diferentemente do fenômeno observado neste estudo.<sup>25</sup> Portanto, a variação de amplitude das ondas R representa esse “entra e sai” das células na obscura zona isquêmica. Nossos dados mostram que, enquanto em pacientes controle ocorreu perda do miocárdio, em pacientes submetidos ao pré-condicionamento, o miocárdio ficou melhor preservado.

Por outro lado, nossos resultados mostraram que houve comprometimento da função renal nos dois grupos. A magnitude do desarranjo renal foi significativo, mas não proeminente, longe dos limites da nefropatia induzida por contraste (aumento de 25% da creatinina sérica ou aumento absoluto de 0,5 mg/dl).<sup>26</sup> Em nossos pacientes, o PCIR não apresentou mudança positiva na funcionalidade renal.

## Conclusão

A manobra de oclusão da circulação do braço com manguito é de fácil realização, baixo custo e inofensiva, e, quando usada antes da ICP, pode proteger o miocárdio da lesão causada pela própria intervenção coronariana e

da lesão de reperfusão após angioplastia, devido à maior biodisponibilidade de NO na lesão aterosclerótica.

## Limitações do estudo

A despeito da clara participação do NO na redução do dano miocárdico, a complexidade do fenômeno de pré-condicionamento requer estudos mais profundos. Sabe-se que esse fenômeno tem duas fases, uma precoce (“primeira janela”), que começa imediatamente e dura várias horas, e outra tardia (“segunda janela”), que começa 12 a 24 horas mais tarde e tem maior duração (48-72 horas), denominada “Segunda Janela de Proteção” (SWOP) ou pré-condicionamento isquêmico tardio.<sup>6</sup> Enquanto na primeira “janela” o pré-condicionamento do miocárdio provoca vasodilatação, na segunda “janela”, várias alterações de redução de atividade ocorrem nas proteínas e expressão de genes que codificam várias proteínas relacionadas a oxidação, resposta protetora de choque térmico, e ativação de NF- $\kappa$ B. Várias outras investigações indicam que o NO pode agir como mediador da “segunda janela” do pré-condicionamento isquêmico<sup>27</sup> sobre a abertura do efêtor final do pré-condicionamento tardio, o canal de potássio mitocondrial sensível ao ATP (mitoK-ATP).<sup>28</sup> Além disso, tem-se que provar que o NO age nas duas janelas do fenômeno de pré-condicionamento, e ainda qual isoenzima é responsável pelo aumento de sua produção (eNOS ou iNOS).

Por fim, as consequências clínicas e o prognóstico do resgate do miocárdio resultantes do pré-condicionamento ainda precisam ser testados no longo prazo.

## Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Arroyo-Martínez EA, Meaney A, Alcocer-Chauvet A, Ceballos G, Meaney E; Obtenção de dados: Arroyo-Martínez EA, Meaney A, Rivera-Capello JM, González-Coronado V, Castillo G, Nájera N; Análise e interpretação dos dados: Meaney A, Gutiérrez-Salmeán G, Ceballos G, Meaney E; Análise estatística: Arroyo-Martínez EA, Meaney A, Gutiérrez-Salmeán G, González-Coronado V, Castillo G, Nájera N, Meaney E; Obtenção de financiamento: Meaney A, Meaney E; Redação do manuscrito: Arroyo-Martínez EA, Gutiérrez-Salmeán G, Alcocer-Chauvet A, Ceballos G, Meaney E; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Gutiérrez-Salmeán G, Alcocer-Chauvet A, Ceballos G, Meaney E.

## Potencial conflito de interesse

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de financiamento

O presente estudo não teve fontes de financiamento externas.

## Vinculação acadêmica

Não há vinculação deste estudo a programas de pós-graduação.



## Referências

1. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation*. 1986;74(5):1124-36.
2. Przyklen K, Whittaker P. Remote ischemic preconditioning: current knowledge, unresolved questions, and future priorities. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2011;16(3-4):255-9.
3. Kloner R a. Clinical application of remote ischemic preconditioning. *Circulation*. 2009;119(6):776-8.
4. Landymore RW, Bayes AJ, Murphy JT, Fris JH. Preconditioning prevents myocardial stunning after cardiac transplantation. *Ann Thorac Surg*. 1998;66(6):1953-7.
5. Thielmann M, Kottenberg E, Kleinbongard P, Wendt D. Cardioprotective and prognostic effects of remote ischemic preconditioning in patients. *Lancet*. 2013;382(9892):597-604. Erratum in: *Lancet*. 2013;382(9896):940.
6. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*. 2008;79(3):377-86.
7. Hoole SP, Heck PM, Sharples L, Khan SN, Duehmke R, Densem CG, et al. Cardiac remote ischemic preconditioning in coronary stenting (CRISP Stent) study: a prospective, randomized control trial. *Circulation*. 2009;119(6):820-7.
8. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. *JAMA*. 2013;310(20):2192-4.
9. Shaneyfelt TM, Centor RM. Reassessment of clinical practice guidelines: go gently into that good night. *JAMA*. 2009;301(8):868-9.
10. Daubert MA, Jeremias A. The utility of troponin measurement to detect myocardial infarction: review of the current findings. *Vasc Health Risk Manag*. 2010;6:691-9.
11. American College of Sports Medicine (ACSM). ACSM's Guidelines for exercise testing and prescription: primary care. 8th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer; 2010. p. 55-67.
12. Jaffe AS. Third universal definition of myocardial infarction. *Clin Biochem*. 2013;46(1-2):1-4.
13. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41.
14. Loukogeorgakis SP, Panagiotidou AT, Broadhead MW, Donald A, Deanfield JE, MacAllister RJ. Remote ischemic preconditioning provides early and late protection against endothelial ischemia-reperfusion injury in humans: role of the autonomic nervous system. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(3):450-6.
15. Vassalli G, Milano G, Moccetti T. Role of mitogen-activated protein kinases in myocardial ischemia-reperfusion injury during heart transplantation. *J Transplant*. 2012;2012:928954.
16. Abu-Amara M, Yang SY, Quaglia A, Rowley P, Fuller B, Seifalian A, et al. Role of endothelial nitric oxide synthase in remote ischemic preconditioning of the mouse liver. *Liver Transpl*. 2011;17(5):610-9.
17. Kuntscher MV, Kastell T, Altmann J, Menke H, Gebhard MM, Germann G. Acute remote ischemic preconditioning II: the role of nitric oxide. *Microsurgery*. 2002;22(6):227-31.
18. Murad F. Discovery of some of the biological effects of nitric oxide and its role in cell signaling. *Biosci Rep*. 2004;24(4-5):452-74.
19. Lundberg JO, Weitzberg E, Gladwin MT. The nitrate-nitrite-nitric oxide pathway in physiology and therapeutics. *Nat Rev Drug Discov*. 2008;7(2):156-67.
20. Muschart X, Slimani A, Jamart J, Chenu P, Dangoisse V, Gabriel L, et al. The different mechanisms of periprocedural myocardial infarction and their impact on in-hospital outcome. *J Invasive Cardiol*. 2012;24(12):655-60.
21. Moussa ID, Klein LW, Shah B, Mehran R, Mack MJ, Brilakis ES, et al. Consideration of a new definition of clinically relevant myocardial infarction after coronary revascularization: an expert consensus document from the society for cardiovascular angiography and interventions (SCAI). *J Am Coll Cardiol*. 2013;62(17):1563-70.
22. Stone GW, Bertrand M, Colombo A, Dangas G, Farkouh ME, Feit F, et al. Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage strategy (ACUITY) trial: study design and rationale. *Am Heart J*. 2004;148(5):764-75.
23. Young SG, Abouantoun S, Sawvides M, Madsen EB, Froelicher V. Limitations of electrocardiographic scoring systems for estimation of left ventricular function. *J Am Coll Cardiol*. 1983;1(6):1479-88.
24. Sun X, Cai J, Fan X, Han P, Xie Y, Chen J, et al. Decreases in electrocardiographic R-wave amplitude and QT interval predict myocardial ischemic infarction in Rhesus monkeys with left anterior descending artery ligation. *PLoS One*. 2013;8(8):e71876.
25. Isobe S, Takada Y, Ando A, Ohshima S, Yamada K, Nanasato M, et al. Increase in electrocardiographic R-waves after revascularization in patients with acute myocardial infarction. *Circ J*. 2006;70(11):1385-91.
26. Sinno MC, Kowalski M, Kenigsberg DN, Krishnan SC, Khanal S. R-wave amplitude changes measured by electrocardiography during early transmural ischemia. *J Electrocardiol*. 2008;41(5):425-30.
27. Gassanov N, Nia AM, Caglayan E, Er F. Remote ischemic preconditioning and renoprotection: from myth to a novel therapeutic option? *J Am Soc Nephrol*. 2014;25(2):216-24.
28. Sasaki N, Sato T, Ohler A, O'Rourke B, Marbán E. Activation of mitochondrial ATP-dependent potassium channels by nitric oxide. *Circulation*. 2000;101(4):439-45.