

André Miguel Coimbra Luz

**Lesão de isquemia-reperusão em doentes com enfarte agudo do miocárdio com elevação do segmento ST. Papel da trombectomia aspirativa, do pré e do pós-condicionamento isquémico em doentes tratados por angioplastia primária.**

Tese de Candidatura ao grau de Doutor em Ciências Médicas submetida ao Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Orientador – Doutor Henrique José Cyrne de Castro Machado Carvalho.

Categoria – Professor Associado com Agregação.

Afiliação – Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto.

Co-orientador – Doutor Adelino F. Leite-Moreira.

Categoria – Professor Catedrático.

Afiliação – Faculdade de Medicina da Universidade do Porto.

#### Legislação e regulamentos aplicáveis ao Doutoramento em Ciências Médicas:

De acordo com: o disposto no nº 1 do artigo 34º do Decreto-Lei nº 74/2006, publicado em Diário da República, 1ª série, nº 60 de 24 de Março de 2006, e republicado pelo Decreto-Lei nº 115/2013, publicado em Diário da República, 1ª série, nº 151 de 7 de Agosto de 2013, que procede à terceira alteração ao Decreto-Lei nº 74/2006, de 24 de março de 2006; regulamento geral dos terceiros ciclos de estudos da Universidade do Porto, aprovado pelo despacho reitoral GR.05/11/2009, de 24 de novembro; regulamento Específico do Doutoramento em Ciências Médicas aprovado da Comissão Coordenadora do Conselho Científico do Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar da Universidade do Porto, a 21 de abril de 2010.

*“Success is not final, failure is not fatal: it is the courage to continue that counts.”*

Winston Churchill

# ÍNDICE

<b>I – INTRODUÇÃO .....</b>	<b>7</b>
I.1. O enfarte agudo de miocárdio com elevação de ST: epidemiologia e resumo do estado da arte.....	7
I.2. A reperfusão e a “teoria da artéria aberta”- perspectiva histórica. ....	10
I.2.1. Avaliação da reperfusão e da extensão do enfarte. ....	14
I.3. A lesão de isquemia-reperfusão e a cardioprotecção .....	17
I.3.1. Perspectiva histórica da lesão de isquemia-reperfusão .....	17
I.3.2. O fenómeno de “no-reflow” coronário.....	18
I.3.3. A trombectomia aspirativa .....	21
I.3.4. A lesão letal de reperfusão ( <i>lethal reperfusion injury</i> ) .....	22
I.3.4.1. Fisiopatologia da lesão isquémica.....	23
I.3.4.2. Fisiopatologia da lesão de isquemia-reperfusão .....	24
I.3.5. Pré-condicionamento isquémico .....	26
I.3.6. Pós-condicionamento isquémico.....	28
I.3.7. Condicionamento remoto .....	30
I.3.8. Condicionamento/cardioprotecção farmacológica.....	32
<b>II – OBJECTIVOS .....</b>	<b>34</b>
<b>III – MÉTODOS E RESULTADOS (PUBLICAÇÕES).....</b>	<b>35</b>
<b>IV – DISCUSSÃO .....</b>	<b>85</b>
VI.1. Análise dos trabalhos publicados.....	85
IV.2. O que falhou até agora? .....	90
IV.3. Orientações futuras.....	94
<b>V - CONCLUSÕES.....</b>	<b>97</b>



<b>VI- RESUMO / <i>ABSTRACT</i> .....</b>	<b>98</b>
<b>VII - BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>102</b>
<b>VIII – AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>118</b>

## ABREVIATURAS

AER – Área Em Risco

ATP – Adenosina Tri-Fosfato

AVC – Acidente Vascular Cerebral

CHUP – Centro Hospitalar Universitário do Porto

CondRem – Condicionamento (Isquémico) Remoto

CK – Creatina Kinase

DCI – Doença Cardíaca Isquémica

EAM c/ST – Enfarte Agudo do Miocárdio com Elevação do segmento ST

FEVE – Fração de Ejeção Ventricular Esquerda

ICP – Intervenção Coronária Percutânea

IRM – Índice de resistência microcirculatória

LIR – Lesão de Isquemia-Reperusão

MBG – *Myocardial Blush Grade*

MPTP - *Mitochondrial Permability Transition Pore*

MSI – *Myocardial Salvage Index*

PosCond – Pós-Condicionamento Isquémico

PreCond – Pré-Condicionamento Isquémico

RISK - *Reperfusion Injury Salvage Kinases*

RMC – Ressonância Magnética Cardíaca

SAFE- *Survivor Activating Factor Enhancement*

sTRAIL - *Serum TNF-Related Apoptosis Induced Ligand*

TAm – Trombectomia Aspirativa Manual

TIMI – *Thrombolysis In Myocardial Infarction*

TnT – Troponina T

## I – INTRODUÇÃO

### I.1. O enfarte agudo de miocárdio com elevação de ST: epidemiologia e resumo do estado da arte

A doença cardíaca isquémica (DCI) continua a ser a principal causa mundial de mortalidade<sup>1-3</sup>. Em 2013, a DCI foi responsável por mais de 8 milhões de óbitos, sendo esta a principal causa de mortalidade a partir dos 45 anos de idade<sup>2</sup>. Por ano, na Europa, a DCI é responsável por cerca de 1,8 milhões de óbitos (o que corresponde a cerca de 20% da mortalidade), logo a seguir às doenças oncológicas, mas salvaguardando-se, contudo, diferenças regionais e de distribuição pelo género. No entanto, é a doença cardiovascular (onde se inclui a DCI e a doença cerebrovascular) a principal causa de mortalidade (45%)<sup>4</sup>. Especificamente no que concerne à DCI, é interessante verificar, que a mortalidade por esta causa no continente europeu tem vindo a diminuir (em 2004 era a principal causa de mortalidade de causas naturais na generalidade dos países mesmo em doentes com menos de 65 anos), tendo sido recentemente ultrapassada pelas doenças oncológicas<sup>4</sup>. Em Portugal, (dados de 2014)<sup>5</sup>, a principal causa de morte por doença pertence ao universo da doença cardiovascular (30,7%), correspondendo a uma taxa de mortalidade bruta de 301,4 óbitos por 100000 habitantes (e padronizada de 150,8 por 100000 habitantes). Nesse ano, a taxa de mortalidade devido a DCI foi de 7,1% (7456 óbitos), correspondendo a uma taxa de mortalidade bruta de 71,7 por 100000 habitantes (e padronizada de 38,5 por 100000 habitantes), sendo que o número médio de anos potenciais de vida perdidos foi de 11,5<sup>5</sup>. Em linha com a tendência na restante União Europeia (e também com os Estados Unidos da América), a taxa de mortalidade padronizada por DCI diminuiu de 42 por 100000 habitantes em 2008 para o valor actual<sup>6</sup>. As causas que contribuíram para a diminuição da mortalidade relacionada com a DCI prendem-se com a adopção de hábitos de vida saudáveis, melhor vigilância e controlo de factores de risco vascular e ao acesso a cuidados de saúde de qualidade<sup>2-4,7</sup>.

Em Portugal, em 2014, contabilizaram-se 4619 mortes por enfarte agudo do miocárdio (a idade média à morte foi de 76 anos), representando 4,4% da

mortalidade no nosso País, correspondendo a uma taxa de mortalidade padronizada de 24,3 óbitos por 100000 habitantes (para ambos os sexos e para todas as idades), e de 8,4 por 100000 para indivíduos com menos de 65 anos<sup>5</sup>. Este é um valor ligeiramente acima do verificado em 2012, muito embora a taxa de mortalidade por enfarte agudo do miocárdio tenha vindo a diminuir em paralelo com a diminuição da mortalidade quer por DCI, quer por doença cerebrovascular.

A prevalência do enfarte agudo do miocárdio com elevação do segmento ST (EAM c/ ST) também varia consoante a região geográfica, estimando-se, quer na Europa quer nos EUA, que se situe entre os 60 e os 100 casos por 100000 habitantes, decrescendo na última década em paralelo com o crescimento da taxa de enfarte sem elevação do segmento ST<sup>8</sup>.

O EAM c/ ST corresponde entre 25% a 40% do total dos doentes com enfarte do miocárdio<sup>9</sup>, tratando-se de uma condição clínica aguda e de elevada mortalidade se não for objecto de cuidados médicos imediatos. A elaboração de recomendações por parte de sociedades científicas<sup>10,11</sup> permitiu a criação de protocolos de actuação universais, cuja aplicabilidade tem tido como resultado a redução da morbimortalidade<sup>12,13</sup>. De facto, a mortalidade hospitalar decaiu de cerca de 20% na década de oitenta, para 5-7% nalgumas séries europeias e norte-americanas, reflectindo não só o impacto da reperfusão, mas também da adopção de cuidados hospitalares adequados e da intervenção farmacológica baseada na evidência, actualmente plasmadas nas recomendações das principais sociedades científicas<sup>14-16</sup>. Contudo, é importante sublinhar que estas percentagens reflectem valores médios, que são muito influenciados por doentes de relativo baixo risco e que compõe a maioria das séries. Mais importante ainda, referem-se a indivíduos tratados, pouco se sabendo daqueles a quem não é oferecido o tratamento adequado. Neste contexto, vale a pena verificar que a taxa de mortalidade hospitalar em doentes não submetidos a reperfusão numa série europeia foi de quase 30%<sup>17</sup>. Acresce, que alguns registos nacionais de grande dimensão, baseiam-se na proporção de admitidos em unidades hospitalares<sup>18,19</sup>, subestimando a mortalidade muito precoce (doentes que vêm a falecer depois de efectuado o diagnóstico, mas antes da terapêutica de reperfusão). Por outro lado, a mortalidade imediata e a médio prazo de certas populações continua inaceitavelmente elevada. É o caso dos

doentes diabéticos<sup>20</sup>, doentes com insuficiência renal crónica<sup>21</sup>, doentes idosos<sup>22,23</sup>, doentes de menor literacia (mesmo em países social e economicamente desenvolvidos<sup>24</sup>) e, nalgumas séries, doentes do sexo feminino<sup>25</sup> (é de notar que a diferença de género não foi preditora de pior prognóstico numa amostra portuguesa com mais de 7000 doentes<sup>26</sup>). Finalmente, importa reflectir que no grupo de doentes complicados de choque cardiogénico, a mortalidade intra-hospitalar mantém-se muito elevada (acima de 30%)<sup>27</sup> e praticamente inalterada durante a última década, apesar da evolução terapêutica e da diferenciação de cuidados<sup>28,29</sup>.

Mas se é verdade que se tem assistido a uma redução muito significativa da mortalidade precoce do doente com EAM c/ ST, é também verdade que a mortalidade e morbilidade imputada às consequências tardias do enfarte (tais como a insuficiência cardíaca), não se modificaram ou até têm vindo a aumentar<sup>30-33</sup>. Assim, a mortalidade a longo prazo nalgumas séries contemporâneas e não seleccionadas de sobreviventes de EAM c/ ST submetidos a reperfusão varia entre 8 e 15%<sup>34-37</sup>, ultrapassando os 30% naqueles que complicaram de insuficiência cardíaca grave (classe Killip 3) ou choque cardiogénico durante a fase hospitalar<sup>27,38</sup>. Num registo contemporâneo de mais de 1400 doentes com EAM c/ ST submetidos a angioplastia primária, identificaram-se a idade, a fracção de ejeção ventricular esquerda (FEVE)  $\leq 40\%$ , a classe Killip, o pico de Troponina-T (TnT), a localização anterior, a diabetes e a doença multivaso, como variáveis independentes e incluídas num modelo de risco que foi capaz de estimar a taxa de mortalidade ou internamento por insuficiência cardíaca aos 4 anos, que variou entre 1% e 24%. Num documento recentemente elaborado pela *American Heart Association* referente à estatística cardiovascular, é interessante verificar, que a taxa de doentes com insuficiência cardíaca aos 5 anos após o diagnóstico de enfarte é de cerca de 20% para idade superior ou igual a 45 anos, aproximando-se dos 30% para os doentes com mais de 75 anos<sup>3</sup>. Olhando para a DCI em geral e não apenas para o enfarte, verifica-se que numa meta-análise recentemente publicada, com mais de 230000 doentes proveniente de registos de países de médio-baixo rendimento, a disfunção ventricular esquerda de etiologia isquémica foi uma das principais causas de insuficiência cardíaca<sup>39</sup>, em linha com o já anteriormente observado no EuroHeart Failure Survey II<sup>40</sup>.

Em suma, se a reperfusão e os cuidados pós-reperfusão assentes na medicina baseada na evidência contribuíram sobremaneira para a melhoria prognóstica imediata em grandes séries contemporâneas, constata-se que a heterogeneidade que compõe o universo dos doentes com EAM c/ ST leva a que o prognóstico imediato e tardio varie entre o muito bom e o muito reservado. Sabendo-se que a área final de enfarte relaciona-se com prognóstico adverso<sup>41,42</sup>, parece claro, que qualquer estratégia para limitar a área final de enfarte, será determinante para reduzir não só a morbi-mortalidade imediata (que ainda é elevada nalguns sub-grupos), mas sobretudo para reduzir a taxa de insuficiência cardíaca congestiva no médio/longo prazo.

## **I.2. A reperfusão e a “teoria da artéria aberta” - perspectiva histórica**

Segundo Braunwald, quatro momentos podem ser identificados na história do tratamento do EAM c/ ST: a fase 1 (de 1912 a 1961 – em que o tratamento era baseado no repouso absoluto, de cariz paliativo em que pouco ou nada havia a fazer), a fase 2 (1961 a 1974 - a monitorização com o aparecimento das primeiras “unidades coronárias”, o tratamento das arritmias e da insuficiência cardíaca congestiva), a fase 3 (de 1975 até ao presente – o da reperfusão miocárdica), e a fase 4 (o futuro, que visa a optimização da reperfusão microvascular em larga medida dependente da lesão associada à reperfusão)<sup>43</sup>.

O conhecimento da fisiopatologia e os avanços no tratamento do enfarte agudo do miocárdio, permitiram que a mortalidade hospitalar tenha diminuído sustentadamente desde a década de 1960<sup>44</sup>. Durante a primeira metade do Séc XX, destacam-se os trabalhos pioneiros de Pardee, que em 1920 estabeleceu as correlações clínicas e electrocardiográficas do EAM c/ ST<sup>45</sup>, ou os de Levine, que em 1929 detalhou as manifestações clínicas, sistematizou os factores de risco de doença coronária e as complicações associadas ao enfarte (mecânicas e disrítmicas), encetando os primeiros passos na monitorização cardíaca e no tratamento das bradi e das taquiarritmias.

No que se refere à ciência básica, os primeiros modelos experimentais para estudar a lesão miocárdica dependente da isquemia devem-se a Robert Jennings e

colaboradores, que, na década de 50 do Séc. XX, observaram que a oclusão da artéria circunflexa do cão provocava uma área de isquemia e eventual necrose na parede póstero-lateral do ventrículo esquerdo comprometendo o músculo papilar mitral<sup>46</sup>. Outros estudos documentaram que a extensão da área de enfarte era dependente da área irrigada pela artéria coronária ocluída (área em risco - AER), progredia da região endocárdica para a região epicárdica, e à medida que o tempo de isquemia aumentava, reduzia-se exponencialmente a área viável e passível de ser salva pela reperfusão<sup>47,48</sup>. Assim, procedendo-se à oclusão da artéria circunflexa no coração do cão entre 5 minutos e 2 horas a que se seguiria a reperfusão, foi possível verificar que toda a AER era recuperável se submetida a um tempo de isquemia inferior a 15 minutos, enquanto que para tempos de isquemia superiores a 60 minutos a maioria da região subendocárdica ficava necrótica<sup>48</sup>. Outras experiências também com recurso a modelos animais, permitiram correlacionar a extensão da necrose subendocárdica com o produto obtido entre a duração da isquemia e a extensão da privação do fluxo coronário<sup>49</sup>.

A causa por detrás da oclusão coronária ainda era motivo de debate na última metade do Séc. XX, assumindo-se que era a evolução da placa aterosclerótica que provocava a oclusão do vaso e que a trombose desempenhava um papel secundário<sup>44</sup>. Este princípio era fundamentado em autópsias, em que se visualizava trombo coronário em apenas um terço dos casos. Foi preciso aguardar até 1980 (graças à cateterização selectiva da árvore coronária por DeWood em 517 doentes com enfarte), para se estabelecer que a oclusão trombótica de um segmento coronário era a causa (e não uma consequência) da maioria dos doentes com enfarte; ainda, verificou-se que a formação de trombo diminuía nas primeiras 24h após o início dos sintomas<sup>50</sup>.

Apesar de estudos em modelos animais já no final da década de 50 demonstrarem que a lise do trombo intracoronário poderia conduzir à reperfusão do vaso<sup>51</sup>, a sua aplicabilidade em doentes com enfarte agudo do miocárdio conheceu os primeiros passos em meados e finais da década de 70. Em 1975, Chazov e colaboradores reperfundiram coronárias de doentes com enfarte através da administração intra-coronária de estreptoquinase<sup>52</sup>. Anos mais tarde, num estudo publicado por Rentrop com apenas 7 doentes, verificou-se que a recanalização

mecânica através de cateteres ou de fios guia (nalguns casos através de fios-guia de 0.032'' ou 0.038'') em comparação com doentes em que era realizada coronariografia mas sem tentativa de recanalização, reduziu as áreas de acinésia visualizadas na ventriculografia<sup>53</sup>. Em 1981, o mesmo grupo publicou uma série de 29 doentes em que a administração intra-coronária de estreptoquinase reperfundiu 22 dos 29 doentes, assistindo-se ainda a melhoria das queixas de angina e a melhoria da fracção de ejeção ventricular esquerda (FEVE)<sup>54</sup>. Mais tarde, em 1983, Schröder publicou uma série de 93 doentes submetidos a fibrinólise intra-venosa com estreptoquinase, observando-se que o segmento coronário se mantinha patente em 84% dos doentes entretanto submetidos a coronariografia (n=78), e observou-se ainda que a eficácia da reperfusão era inversamente proporcional à duração dos sintomas<sup>55</sup>. Nesse mesmo ano, foi publicado um estudo aleatorizado caso/controlo com 50 doentes, restabelecendo-se a circulação coronária em 19 de 24 doentes a quem fora administrado estreptoquinase intra-coronária. Neste grupo, verificou-se melhoria dos parâmetros clínicos (classe Killip e queixas de angina), resolução electrocardiográfica, e melhoria da performance ventricular esquerda (ventriculografia e cinética segmentar por ecocardiograma)<sup>56</sup>. Hartzler, em 1983, publicou uma série de 41 doentes submetidos a angioplastia coronária por balão com ou sem fibrinólise prévia, sendo a angioplastia o método de reperfusão em 11 doentes<sup>57</sup>; esta seria, provavelmente, a primeira série de doentes tratada por "angioplastia directa" (ou primária). Em finais dos anos oitenta / início da década de noventa, alguns estudos clínicos (de pequena dimensão), tais como o de Ribeiro<sup>58</sup>, procuravam estudar se a desobstrução mecânica por angioplastia seria superior à reperfusão farmacológica, em face dos riscos (mas também das limitações) da fibrinólise. Entretanto, estudos aleatorizados tais como o de Simoons (n= 533 doentes)<sup>59</sup>, e de White (n=219)<sup>60</sup> confirmariam o benefício na fase hospitalar e a médio-longo prazo dos doentes submetidos a reperfusão farmacológica, confirmando-se, numa meta-análise, que o tratamento fibrinolítico por via intra-venosa reduzia a mortalidade em maior grau que a administração do fibrinolítico por via intra-coronária<sup>61</sup>.

Contudo, só após o primeiro estudo GISSI, em 1986, com a aleatorização de quase 12000 doentes em que se demonstrou que a administração intra-venosa de



estreptoquinase reduzira a mortalidade hospitalar em 18% em doentes tratados até 12h de evolução de sintomas, é que a fibrinólise passou a ser consagrada na reperfusão de doentes com EAM<sup>62,63</sup>. Neste grande ensaio clínico, a redução da mortalidade hospitalar foi dependente do tempo decorrido desde o início dos sintomas até à fibrinólise, situando-se entre 43% (doentes tratados na primeira hora) e 23% (doentes tratados nas primeiras 3h de sintomas)<sup>63</sup>. Mais tarde, numa meta-análise com mais de 50000 doentes, verificou-se que a redução da mortalidade era muito dependente do tempo sintomas até à reperfusão, cujo benefício era mais expressivo se os doentes fossem tratados até 2h de sintomas<sup>64</sup>.

A evolução da reperfusão do EAM c/ ST nas últimas décadas do Séc. XX e início do Séc XXI foi impressionante. Algumas etapas decisivas para chegarmos ao actual estado da arte da reperfusão foram o desenvolvimento de fibrinolíticos de “terceira geração” mais específicos da fibrina e mais potentes (como o t-PA recombinante e a tenecteplase)<sup>65,66</sup>, a co-administração de aspirina<sup>67</sup> e clopidogrel<sup>68</sup> ao fibrinolítico, e, mais tarde, a reperfusão mecânica através de angioplastia. O primeiro estudo multicêntrico com dimensão suficiente para comparar a angioplastia por balão com a fibrinólise foi publicado em 1993 por Grines e colaboradores<sup>69,70</sup>, que teve como resultados a diminuição de mortalidade e re-enfarte não fatal a par de menor taxa de hemorragia intracraniana. Mais tarde, foi comparada a angioplastia por balão com a utilização de *stent* (combinada ou não com abciximab<sup>71-73</sup>), verificando-se que a sua utilização reduziria a taxa de re-intervenção da lesão alvo. Verificada a superioridade da intervenção coronária percutânea (ICP) em meta-análises na redução da mortalidade, do re-enfarte, e na diminuição do acidente vascular cerebral (AVC), particularmente o AVC hemorrágico em comparação com a fibrinólise<sup>74</sup>, as principais sociedades científicas recomendam a reperfusão por ICP como indicação classe IA desde que efectuada por equipas experientes<sup>10,11</sup>, reservando-se a fibrinólise para as situações em que o atraso para a angioplastia primária seja inaceitavelmente longo. Felizmente, os dados recentes da adopção da angioplastia primária em Portugal nos últimos anos, reflectem uma evolução muito positiva, actualmente com uma taxa superior a 300 ICP primárias por milhão de habitantes (semelhante a outros países europeus), quando, ainda em 2010,

surgíamos com uma das mais baixas taxas europeias, inferior a 200 por milhão de habitantes<sup>75</sup>.

Seja qual for a estratégia de reperfusão administrada ao doente com EAM c/ ST, o objectivo primário é restaurar a perfusão coronária, por forma a salvar miocárdio ainda viável e reduzir a morbi-mortalidade. “Tempo é miocárdio”, e está por demais demonstrado que o tempo isquémico total é inversamente proporcional à probabilidade em recrutar miocárdio ainda viável, o que se traduz em pior prognóstico<sup>76</sup>.

Sem fazer uma apreciação exaustiva de todos os estudos por detrás das duas estratégias de reperfusão coronária, a teoria da “artéria aberta precoce” (“*early open artery theory*”) tem sido a pedra angular da reperfusão desde as últimas décadas do Séc. XX<sup>77,78</sup>. Abriu-se, assim, um novo capítulo da Cardiologia contemporânea, e uma das mais importantes evoluções da medicina do Séc. XX: a era da reperfusão.

### **I.2.1. Avaliação da reperfusão e da extensão do enfarte.**

Existem vários parâmetros que permitem aferir a extensão do enfarte. Do ponto de vista bioquímico, quer o pico enzimático da creatina kinase (CK) ou troponinas quer a área por baixo da curva de medições seriadas, além de se revestirem de forte impacto prognóstico<sup>79</sup>, correlacionam-se robustamente com as técnicas imagiológicas para avaliação da área de enfarte (cintigrafia ou ressonância magnética cardíaca – RMC)<sup>80-82</sup>, ou com a performance ventricular esquerda avaliada por ecocardiografia<sup>79,83</sup>. Contudo, a RMC tem sido o método crescentemente utilizado em estudos inovadores na área da cardioprotecção, considerando-se que é o método ideal para a avaliação da obstrução microvascular, para a aferição da extensão final da área de enfarte, para a estimativa da AER e para o cálculo da “taxa de salvamento miocárdico” (MSI - *Myocardial Salvage Index* - diferença entre a área de enfarte e a AER a dividir pela AER)<sup>84</sup>.

Do ponto de vista angiográfico, a efectividade da reperfusão coronária tem sido classicamente avaliada segundo a gradação TIMI (*Thrombolysis In Myocardial Infarction*), em que 0 (zero) corresponde a oclusão completa da artéria coronária

responsável pelo enfarte, 1 (um) corresponde a “alguma” penetração de contraste mas sem visualização do leito distal, 2 (dois) correspondente à penetração de contraste para o leito distal mas com fluxo lentificado, e 3 (três) corresponde à reperfusão completa com fluxo normal<sup>85,86</sup>. O fluxo TIMI 3 correlaciona-se com menor mortalidade imediata e a médio-longo prazo<sup>87</sup>. Mas a hipótese, (ou teoria), da “artéria aberta”, foi desde cedo questionada no que se refere à sua eficácia na reperfusão microvascular<sup>88</sup>. Um estudo com apenas 39 doentes ainda na era da fibrinólise, avaliando a reperfusão através de ecocardiografia de contraste, demonstrou que apesar do sucesso da reperfusão epicárdica, em 23% dos casos evidenciaram-se áreas residuais compatíveis com defeitos de perfusão. Nestes casos, a reperfusão microvascular incompleta correlacionou-se com diminuta recuperação da contractilidade regional e global quando comparado com o subgrupo de doentes sem defeitos de perfusão<sup>89</sup>. Uma avaliação angiográfica sistematizada da reperfusão miocárdica para além do fluxo obtido na artéria epicárdica foi publicada em 1998, referente a uma série de 777 doentes submetidos a angioplastia primária<sup>90</sup>. Daqui nasceu o conceito de *blush* miocárdico (“*myocardial blush grade – MBG*”), como determinante da qualidade da reperfusão, comparando-o com o desfecho clínico e com parâmetros laboratoriais tais como a resolução do segmento ST, a elevação enzimática e a disfunção ventricular esquerda pós enfarte. Definiu-se como MBG 3 (três) se se verificasse densidade microvascular do produto de contraste semelhante a outros territórios que não o da artéria do enfarte e portanto normal, enquanto que o MBG 0 (zero) correspondeu à não visualização de contraste miocárdico. MBG de 1 e 2 foram empiricamente classificados como intermédios entre o MBG de 0 e 3, salvaguardando-se a situação particular em que a persistência do produto de contraste (“*staining*”) seria devido a ruptura com extravasamento para o espaço extracelular, sendo também classificada de MBG 0. Apesar de dependente do observador, verificou-se que o MBG foi um preditor de mortalidade a longo prazo, independentemente do fluxo TIMI final, da FEVE, ou de outras variáveis clínicas. Recentemente, um sub-estudo do HORIZONS-MI demonstrou que cerca de 25% dos doentes obtiveram um MBG de 0 ou 1, o que se associou a uma taxa de mortalidade de 21% aos 3 anos (significativamente superior aos que obtiveram MBG de 2-3)<sup>91</sup>; noutro sub-estudo, verificou-se que a resolução

do segmento ST (> 70%) aos 60 minutos pós reperfusão apenas ocorreu em 50% dos doentes, o que se relacionou de forma independente com o prognóstico<sup>92</sup>.

Em 1993, no clímax da fibrinólise, Lincoff e Topol escreveram um artigo provocativo em que questionaram se a reperfusão não seria apenas uma ilusão, estimando-se em “25% ou menos” a taxa de doentes que de facto obtinham uma reperfusão miocárdica completa<sup>93</sup>. Vinte anos mais tarde, numa meta-análise recentemente publicada em que se utilizou a RMC para a quantificação da área de enfarte, 50% dos doentes com fluxo TIMI 3 epicárdico após a ICP apresentavam obstrução microvascular, achado esse que foi um preditor independente para eventos cardiovasculares major a 2 anos<sup>94</sup>. Outros trabalhos, através da medição do índice de resistência microcirculatória, (IRM - um parâmetro que avalia a fisiologia da microcirculação por termodiluição em estado de hiperémia e correlacionada com a extensão da obstrução microvascular pós-reperfusão por RMC<sup>95</sup>), logo após o restabelecimento da reperfusão epicárdica e prévia à implantação de *stent*, foi possível prever que doentes não iriam obter uma reperfusão coronária adequada<sup>96</sup>. Apesar do número de doentes estudados ser ainda limitado, observou-se que em um terço destes doentes a fisiologia da microcirculação pós ICP estava alterada, correspondendo a significativa obstrução microvascular.

Assim, apesar do sucesso da reperfusão da artéria coronária epicárdica, persistem defeitos de perfusão devido ao compromisso da microcirculação (hoje confirmados graças à moderna imagiologia cardíaca não invasiva e à avaliação invasiva da fisiologia coronária), com impacto clínico muito relevante. Do paradigma associado à reperfusão da artéria epicárdica, transitou-se para o estudo do microambiente capilar e celular que reside a jusante.<sup>97,98</sup>

Através da identificação das alterações microvasculares, celulares e ultra-celulares associadas à reperfusão, postulou-se que esta poderia, ao mesmo tempo que salvava miocárdio isquémico, induzir uma série de fenómenos impeditivos à completa reperfusão miocárdica. Em consequência, as atenções passaram a focar-se não apenas na coronária epicárdica, mas sobretudo nos “compartimentos” microvascular e celular dos quais depende a adequada reperfusão miocárdica<sup>99</sup>. Conhecer e influenciar este microambiente, tem sido o objectivo de uma

impressionante vaga de investigação básica e clínica dos últimos 30 anos: o estudo da Lesão de Isquemia-Reperfusão (LIR).

### I.3. A lesão de isquemia-reperfusão e a cardioprotecção

#### I.3.1. Perspectiva histórica da lesão de isquemia-reperfusão

Talvez não exista melhor forma de abordar o tema da LIR sem revisitar uma recente revisão de Robert Jennings<sup>100</sup>, um dos pioneiros da reperfusão miocárdica, cujos trabalhos iniciais datam dos anos 50 do Séc. XX. Com recurso a modelos animais, percebeu-se que quanto mais longo fosse o insulto isquémico, quanto maior a AER e menor a rede vascular colateral, maior seria o dano miocárdico final. Do ponto de vista ultra-estrutural, objectivaram-se áreas de edema, ruptura da membrana celular, hemorragia, acumulação de neutrófilos, exsudato inflamatório e uma forma de necrose chamada de necrose de contracção em bandas (*“contraction band necrosis”*), que se define como uma desagregação e desestruturação da normal estrutura sarcomérica, cuja principal causa parecia residir nos efeitos bioquímicos da reoxigenação do cardiomiócito ainda viável<sup>101</sup>. Ou seja, se alguns cardiomiócitos podem ser protegidos pela reperfusão atempada (*lesão reversível*), noutros, parecia que a reperfusão aceleraria o processo necrótico. Apesar de não se identificar com exactidão, do ponto de vista ultra-estrutural, que porção de miocárdio ainda se encontra viável no momento da reperfusão, definiu-se que a viabilidade do cardiomiócito se encontrava irreversivelmente comprometida, quando este era incapaz de sobreviver ao restabelecimento do seu microambiente fisiológico. Persistindo a dúvida sobre qual ou quais os determinantes que fazem transitar uma célula ainda viável (apesar de esta se encontrar sob um insulto isquémico), para inviável, postulou-se que a reperfusão pudesse, *per se*, contribuir para esse fenómeno, transformando-a num alvo terapêutico a fim de limitar a área final de enfarte. Já em 1986, num artigo de revisão, Kloner e Braunwald referem-se à reperfusão como uma “espada de dois gumes”<sup>102</sup>, resumindo o estado da arte da época e antevendo a investigação futura sobre este tópico. Contudo, o reconhecimento da LIR não foi pacífico, em larga medida por não se perceber com exactidão onde termina a lesão responsável pela isquemia, e onde começa a lesão

devida à reperfusão<sup>103</sup>. Sabendo-se que a isquemia e a reperfusão estão interligadas, e que a extensão de necrose atribuída à reperfusão depende da magnitude da isquemia, é útil englobar o complexo isquemia-reperfusão num só conceito, que é a LIR. A aceitação da LIR fica finalmente consolidada a partir da observação de que a extensão final do enfarte podia ser limitada em face de manobras ou fármacos cardioprotectores, definindo-se como a morte de células que se encontravam viáveis no término da isquemia, mas que se tornam inviáveis (e acabam por morrer) no momento em que se inicia a reperfusão<sup>104</sup>. Trabalhos experimentais estimaram que até 50% da lesão final do enfarte se deva à reperfusão<sup>105</sup>. Postulou-se, por isso, que controlar o “lado negro da reperfusão” seria a derradeira fronteira no tratamento do doente com EAM c/ ST<sup>43,106</sup>.

O espectro da LIR é composto por quatro grandes grupos, segundo Yellon e Hausenloy<sup>107,108</sup>. O primeiro, é o atordoamento miocárdico (“*stunning*”), que é uma forma transitória de disfunção mecânica que ocorre após a reperfusão mas na ausência de lesão celular irreversível. O segundo, conhecido por fenómeno de “*no-reflow*”, define-se como o comprometimento da normal reperfusão microvascular apesar da adequada reperfusão epicárdica. O terceiro, refere-se à disritmia de reperfusão, geralmente autolimitada e classicamente associada à eficaz reperfusão epicárdica. O quarto grupo, e mais importante, é a lesão letal de reperfusão (*Lethal reperfusion injury*). Dada a benignidade do atordoamento miocárdico transitório e das arritmias de reperfusão que são geralmente autolimitadas e sem prognóstico adverso a longo prazo, apenas serão abordados os fenómenos de “*no-reflow*” e da lesão letal de reperfusão como componentes essenciais da LIR.

### **I.3.2. O fenómeno de “*no-reflow*” coronário**

O fenómeno associado à obstrução microvascular, “*slow-flow*” ou simplesmente “*no-reflow*”, define-se como a incapacidade em se conseguir a adequada perfusão tecidual apesar da adequada recanalização da artéria epicárdica<sup>109</sup>. Primeiramente descrito por Krug em 1966, o estudo detalhado do fenómeno de “*no-reflow*” deve-se a Kloner e colaboradores, espelhado num trabalho publicado em 1974 num modelo animal de isquemia e reperfusão<sup>110</sup>. Várias causas concorrem e estão inter-relacionadas com o fenómeno de “*no-reflow*”,

nomeadamente: a desorganização endotelial (que proporciona o extravasamento de plasma e de elementos figurados para o espaço extra-celular aumentando o edema e por conseguinte a obstrução microvascular), o recrutamento e acumulação intravascular de neutrófilos (não apenas condicionando obstrução luminal mas modulando a resposta inflamatória), a acumulação de radicais livres ligados à reperfusão, e à activação da cascata da coagulação, dependentes quer da resposta inflamatória, quer da lesão endotelial<sup>109,111</sup>.

Na espécie humana, e no que se refere ao doente com EAM c/ ST, algumas diferenças se colocam face aos modelos animais. Em particular, o mecanismo subjacente ao enfarte envolve a ruptura de uma placa aterosclerótica com formação de trombo intracoronário, enquanto que nos modelos animais que estudaram o fenómeno de “*no-reflow*” (e a LIR em geral) o enfarte fora artificialmente provocado através da oclusão extrínseca de uma artéria coronária geralmente sã. Em consequência, o papel da embolização de material atero-trombótico que desempenha um papel crucial no fenómeno de “*no-reflow*” em humanos, é muito difícil de replicar em modelos animais<sup>112</sup>. Outro factor a ter em conta e difícil de replicar em laboratório, é a susceptibilidade individual do doente ao fenómeno de “*no-reflow*”, relacionadas com as co-morbilidades (nomeadamente a diabetes e a hipercolesterolemia), a medicação (estatinas, antiagregação plaquetar, etc) e o condicionamento isquémico<sup>112</sup>, que isoladamente ou em conjunto interferem com o ambiente microvascular.

Os preditores para o aparecimento do fenómeno de “*no-reflow*” são muito variados, alguns impossíveis de controlar na prática clínica<sup>109</sup>. A terapêutica disponível é muito baseada no controlo do ambiente pró-trombótico e sobretudo através da administração de vasodilatadores arteriolares<sup>113</sup>. Contudo, as estratégias para limitar ou tratar o fenómeno de “*no-reflow*” durante a angioplastia primária tem-se revestido de eficácia limitada e com resultados clínicos pouco sólidos<sup>114</sup>. Ainda recentemente, no estudo REFLO-STEMI, a administração de adenosina ou de nitroprussiato intra-coronário durante a ICP primária, não diminuiu a taxa de obstrução microvascular avaliado por RMC<sup>115</sup>.

Apesar deste fenómeno ter como base a disfunção e a desregulação microvascular relacionada com a LIR, é fácil admitir que no doente com EAM c/ ST o

papel da embolização de material trombótico desempenhe um papel importante na obstrução microvascular e concorra para a fisiopatologia deste fenómeno<sup>116</sup>. Recentemente, numa série de doentes com EAM c/ ST em que se estudou o IRM pós ICP primária, a carga trombótica foi preditora de deficiente fisiologia microvascular<sup>96</sup>. Apesar de os novos e potentes antiagregantes plaquetares orais terem relegado a administração de inibidores da glicoproteína 2b/3a para situações de recurso, será justo considerar que a sua administração por via intra-coronária numa série de doentes exclusivamente com enfarte da parede anterior, fez reduzir a área de enfarte aos 30 dias avaliado por RMC<sup>117</sup>. Ou seja, apesar dos estudos actuais dispensarem a utilização sistemática destes antiagregantes plaquetares potentes administrados quer por via intra-venosa, quer por via intra-coronária, a sua utilização em caso de fenómenos de “*no-reflow*” associada a elevada carga trombótica continua a ser utilizada no tratamento percutâneo do EAM c/ ST.

O princípio de que a manipulação do complexo placa/trombo pudesse acarretar microembolização distal e com isso comprometer a reperfusão miocárdica, foi a base do estudo DEFER-STEMI, que estudou o impacto da implantação diferida de *stent* (4-16h pós reperfusão por trombectomia aspirativa ou angioplastia por balão), em doentes com factores de risco para a ocorrência de fenómeno de “*no reflow*” (tempo de sintomas > 6h, idade > 65 anos, elevada carga trombótica, lesão estimada em > 24mm, calibre de referência < 2,5mm, ou sinais clínicos de deficiente reperfusão microvascular – persistência de elevação de ST – e critérios angiográficos de reperfusão epicárdica). Comparativamente aos doentes submetidos a implantação imediata de *stent*, constatou-se que a estratégia diferida reduziu a taxa de “*no-reflow*” e a área de enfarte avaliada por RMC<sup>118</sup>. Ressalve-se contudo tratar-se de um estudo com apenas cerca de 50 doentes em cada braço, justificado pelo cálculo amostral em que se previa uma taxa de fenómeno de “*no-reflow*” de 40% no braço controlo. O mesmo princípio foi testado no estudo DANAMI-3-DEFER<sup>119</sup>. Neste ensaio clínico (n=1215), metade dos doentes (grupo tratamento) foi submetida a reperfusão por trombectomia aspirativa ou a angioplastia simples com balão de calibre inferior ao diâmetro de referência da artéria coronária ocluída, por forma a obter fluxo TIMI 2-3, completando-se a angioplastia com *stent* entre 24-48h. Comparativamente ao grupo controlo (angioplastia convencional), não se



verificou haver vantagem no *endpoint* primário composto aos dois anos (mortalidade global, admissão hospitalar por insuficiência cardíaca, revascularização não planeada ou enfarte recorrente). Contudo, salienta-se a elevada taxa de *crossover* (22% dos doentes no braço tratamento transitou para implantação imediata de *stent* por se considerar que a lesão culpada era demasiado instável para diferir tratamento), e em mais de metade dos doentes a artéria já se encontrava reperfundida (fluxos TIMI 2-3), o que provavelmente fez reduzir o impacto que a estratégia de diferir a implantação de *stent* poderia ter na microembolização.

Apesar de controverso, é relativamente aceite que em casos de elevada carga trombótica e em doentes que se apresentem tardiamente (empiricamente com tempo de sintomas > 6h), a manipulação excessiva do vaso alvo poderá conduzir a que a reperfusão miocárdica fique comprometida apesar da correcta implantação do *stent*. Pese embora a reduzia dimensão da amostra, os dados do estudo DEFER-STEMI, ao evidenciar menor área de enfarte no grupo tratamento, denunciam o papel da elevada carga trombótica na patogénese da obstrução microvascular. Por outro lado, a neutralidade dos resultados clínicos plasmada no DANAMI-3-DEFER pode dever-se ao facto de esta estratégia não ter impacto na generalidade dos doentes, nomeadamente naqueles em que a artéria epicárdica já se encontre desobstruída, ou em casos em que se considere reduzida a probabilidade de ocorrência de fenómeno de “*no-reflow*”. Em face das limitações terapêuticas actuais, é essencial identificar os preditores para a sua ocorrência e adoptar medidas preventivas.

### **I.3.3. A trombectomia aspirativa**

Conceptualmente, a trombectomia aspirativa manual (TAm) seria um adjuvante na limitação da embolização trombótica para a microcirculação, ajudando a limitar a área final do enfarte. Os estudos iniciais revestiram-se grande entusiasmo, ao mostrar que esta técnica tão fácil de utilizar e empiricamente tão lógica, reduzira a taxa de eventos cardiovasculares major na mesma medida em que melhorou os aspectos angiográficos (MBG) e electrocardiográficos (resolução do segmento ST)<sup>120</sup>. Vários estudos e meta-análises se seguiram, avaliando critérios

laboratoriais e clínicos, confirmando que a TAm teria o seu lugar assegurado na angioplastia primária<sup>121-123</sup>. Em 2014, uma meta-análise compreendendo mais de 11000 doentes confirmou a vantagem da TAm na redução de eventos cardiovascular adversos, nomeadamente nas taxas de mortalidade tardia, re-enfarte e trombose de *stent*. Contudo, este entusiasmo foi arrefecido pela publicação de dois estudos, de grande dimensão. O mais importante foi o estudo TOTAL, um estudo aleatorizado com mais de 10000 doentes, que veio demonstrar que a TAm não só não era mais eficaz na diminuição de eventos clínicos em comparação com a angioplastia sem TAm, e, apesar disso, parecia aumentar a taxa de AVC<sup>124</sup>. Contudo, é interessante verificar que num sub-estudo do estudo TOTAL, o grupo submetido a TAm apresentou menor taxa de embolização coronária distal, que se traduziu, afinal, em menor mortalidade<sup>125</sup>. Ainda a favor da TAm, observam-se os resultados a um ano do estudo INFUSE-AMI (enfarte anterior extenso)<sup>126</sup>, mas sem efeito num subgrupo do TASTE, que avaliou especificamente o impacto da TAm no enfarte da parede anterior<sup>127</sup>. Finalmente, numa série recentemente publicada, e apesar de não ter havido comparação com a angioplastia simples, verificou-se que a quantidade de trombo residual avaliado por tomografia de coerência óptica efectuada após a utilização da TAm, relacionou-se com pior MBG e com maior pico enzimático final<sup>128</sup>. Contudo, quando comparado com a angioplastia simples, e através da mesma técnica de imagem, a TAm não reduziu significativamente a carga trombótica antes da implantação do *stent* num sub-estudo do TOTAL<sup>129</sup>. Então, como colocar toda esta evidência por vezes contraditória em perspectiva e interpretar os resultados?

A experiência do Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP) no tratamento do EAM c/ ST serviu de base a dois trabalhos que tentarão adicionar alguma informação à evidência já existente, mas com a tónica não apenas na comparação da TAm utilizada sistematicamente vs angioplastia convencional, mas sobretudo na questão da eficácia da TAm (angiograficamente avaliada e em relação com a AER) quando utilizada segundo o critério do operador.

#### **1.3.4. A lesão letal de reperfusão (*lethal reperfusion injury*)**

A lesão letal de reperfusão define-se como a morte celular de cardiomiócitos que ainda se encontravam viáveis durante a fase isquémica, mas que viriam a

tornar-se inviáveis (e morrer) na dependência da reperfusão<sup>105,107</sup>. Na literatura científica, a *lesão letal de reperfusão* é substituída a maioria das vezes pela definição de LIR no seu sentido mais lato. O conceito de que a lesão associada à reperfusão pudesse ser um factor independente de morte celular e por isso distinto da lesão isquémica foi largamente debatido, havendo quem se questionasse se esse fenómeno existia em humanos (e portanto fora do ambiente experimental do laboratório)<sup>103</sup>. Esta incerteza deve-se à inerente dificuldade em avaliar o progresso da necrose celular durante a fase isquémica e depois distingui-la da reperfusão. Em consequência, a melhor forma de provar que este fenómeno existe é através da avaliação da extensão do enfarte em modelos experimentais submetidos a terapêuticas que limitem o dano celular associados à reperfusão<sup>104,105,107</sup>. Mas valerá a pena frisar, como anteriormente descrito, que os dois pilares fundamentais da LIR (o fenómeno de “*no-reflow*” e a lesão letal de reperfusão) estão interligados, na medida em que as alterações estruturais devidas à lesão letal de reperfusão concorrem para o fenómeno de “*no-reflow*”. Resume-se de seguida a fisiopatologia da lesão isquémica e, depois, a lesão associada à reperfusão.

#### **I.3.4.1. Fisiopatologia da lesão isquémica**

Se a oclusão coronária for sustentada e não aliviada a tempo pela reperfusão, a área de necrose final corresponderá à AER, extendendo-se transmuralmente da região subendocárdica para a região epicárdica<sup>130</sup>. Da privação de oxigénio, diminui a fosforilação oxidativa, o metabolismo celular transita de aeróbio para anaeróbio com a consequente produção de lactato e diminuição do pH intra-celular e a actividade contráctil diminui ou cessa. O excesso de H<sup>+</sup> é expelido através do co-transportador Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> acumulando-se Na<sup>+</sup> intra-celular, acumulação esta que é agravada pela disfunção da bomba sódio-potássio dependente de energia. Para que se promova a extrusão do excesso de Na<sup>+</sup>, a activação do canal 2Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup> leva à acumulação de Ca<sup>2+</sup> intra-celular (esta acumulação de Ca<sup>2+</sup> terá um papel fulcral na LIR)<sup>108</sup>. Na ausência de reperfusão, o edema celular leva à ruptura da membrana levando à dispersão dos organelos para o espaço extra-celular e a grande activação inflamatória.

### I.3.4.2. Fisiopatologia da lesão de isquemia-reperfusão

Enquanto que a lesão estrutural primordial da lesão isquémica é a necrose secundária à ruptura da membrana celular, na LIR, para além da necrose, outros tipos de morte celular são evidentes tais como a apoptose, a necroptose (que partilha alterações estruturais com a necrose e com a apoptose), a piroptose (morte celular secundária a citocinas inflamatórias) e a autofagia (que embora sendo um mecanismo protector da homeostasia celular ao promover a eliminação controlada de organelos celulares disfuncionantes, a desregulação deste processo devido à LIR pode levar a um acréscimo de morte celular)<sup>131,132</sup>. Essas alterações estruturais e ultra-estruturais co-existem quer no miocárdico não reperfundido, quer no miocárdio sujeito a reperfusão, desconhecendo-se em detalhe qual destes tipos de morte celular mais influencia a extensão final do enfarte. Embora na perspectiva clínica isso seja pouco relevante, o conhecimento da fisiopatologia por detrás de cada tipo de morte celular pode ajudar a conceber formas terapêuticas capazes de modular a resposta celular à LIR<sup>104</sup>.

Apesar da complexidade da LIR, resumem-se os principais factores que se acredita serem a sua base fisiopatológica<sup>107,108</sup>:

a) “*Poros mitocondrial de transição*” (*mitochondrial permability transition pore – MPTP*). O MPTP é um canal não selectivo da membrana mitocondrial. Durante a isquemia, o MPTP mantém-se encerrado. Logo após o restabelecimento da respiração aeróbia pela reperfusão, a mitocondria captura o excesso de cálcio citosólico acumulado durante a fase isquémica. A elevada concentração de cálcio mitocondrial, a produção de radicais livres e a rápida normalização do pH promovem a abertura do MPTP. Em consequência, a funcionalidade mitocondrial fica limitada pela perda do potencial de membrana, e a fosforilação oxidativa fica comprometida com a consequente depleção de adenosina tri-fostato (ATP). Por outro lado, a abertura do MPTP promove o edema deste organelo, contribuindo ainda mais para a sua disfuncionalidade, ao mesmo tempo que se activa a cascata da apoptose através da libertação de caspases proteolíticas<sup>133,134</sup>. Dada a sua importância na fisiopatologia da LIR (onde vários estímulos parecem convergir), e dado ter sido possível reduzir a extensão do enfarte em modelos animais através de manobras que modulavam o MPTP<sup>135</sup>, vários estudos foram implementados na prática clínica

tendo por base a fisiopatologia mitocondrial na LIR (ver adiante)<sup>136</sup>. Com efeito, o estudo detalhado da fisiopatologia do MPTP permitiu evidenciar os dois momentos distintos que concorrem para a morte celular no enfarte, ajudando a compreender melhor a lesão celular especificamente atribuída à reperfusão.

*b) Stress oxidativo (ou paradoxo do oxigênio):* A reperfusão e a reoxigenação celular aumentam a concentração de radicais livres, cuja produção excede a capacidade de eliminação. Para além dos efeitos no MPTP, a sua acumulação provoca danos irreparáveis na estrutura celular ainda viável no término da isquemia e início da reperfusão.

*c) Sobrecarga de cálcio intra-celular (ou paradoxo do cálcio):* A acumulação de  $\text{Ca}^{2+}$  ocorre durante a fase isquémica e é exacerbado na fase de reperfusão, muito devido à desregulação da membrana sarcoplasmática (em que o stress oxidativo é influente) e do retículo sarcoplasmático. A sobrecarga intra-celular de  $\text{Ca}^{2+}$  provoca hipercontractura miofibrilar e promove a abertura do MPTP.

*d) Normalização do pH intra-celular (ou paradoxo do pH):* A rápida oxigenação nas fases iniciais da reperfusão re-activa o co-transportador  $\text{Na}^+/\text{H}^+$ . A diminuição do ácido láctico intra-celular e a rápida normalização do pH, eliminam o estímulo para que o MPTP se mantenha encerrado.

*e) Inflamação:* A libertação de mediadores inflamatórios na região do enfarte promove a atracção de leucócitos. A sua acção local deve ser entendida como necessária à cicatrização e fibrose da área de enfarte, mas também pejorativa na medida em que concorre para a obstrução microvascular e para a acumulação de radicais livres aumentando a área de enfarte. Controlar apenas a pior parte da inflamação, será porventura muito difícil de se conseguir<sup>137</sup>.

Apesar de alguns estudos clínicos que tiveram estes moduladores como alvo terapêutico obtivessem resultados animadores, na maioria dos estudos a eficácia farmacológica para mitigar os efeitos da LIR tem sido decepcionante<sup>138</sup>. Ao mesmo tempo, verificou-se que o coração tinha uma grande capacidade adaptativa ao stress isquémico e à reperfusão, demonstrando-se que a célula miocárdica (e provavelmente todas as células dos mamíferos) era capaz de suportar quer o insulto isquémico prolongado, quer a reperfusão, se fosse submetido a ciclos de isquemia/reperfusão. O termo “condicionamento isquémico”, refere-se, então, aos

mecanismos endógenos cardioprotectores que tornam o coração resistente à LIR, através da aplicação de ciclos breves de isquemia / reperfusão<sup>139</sup>. Estes estímulos poderiam ser aplicados antes do estabelecimento do insulto isquémico (pré-condicionamento - PreCond), após ou durante a reperfusão (pós-condicionamento - PosCond e per-condicionamento isquémico), ou até através da estimulação de um tecido remoto, (condicionamento remoto - CondRem).

### **I.3.5. Pré-condicionamento isquémico**

O PreCond, pela primeira vez elencado por Murry, Jennings e Reimer em 1986, (naquele que ainda é hoje o segundo artigo científico mais citado da revista científica *Circulation*), mostrou que a aplicação intermitente de ciclos de isquemia/reperfusão numa artéria coronária antes da instalação sustentada do insulto isquémico, permitiria reduzir a área de enfarte<sup>140</sup>. Aqueles investigadores, fizeram a intrigante descoberta que o coração do cão podia ser protegido se fosse submetido a quatro ciclos de 5 minutos de oclusão / reperfusão (através da oclusão externa da artéria circunflexa), prévia à sua oclusão sustentada durante 40 minutos, a que se seguiria a reperfusão. Em comparação com o grupo não submetido a PreCond, observou-se que a área de enfarte foi 25% menor, mas sem diferenças se o tempo de isquemia sustentado fosse superior ou igual a 3h. No seguimento desta descoberta, verificou-se que o PreCond, além de reduzir a área de enfarte, desempenhava um importante papel na limitação da LIR.

Apesar do PreCond ter sido aplicado em contexto de cirurgia cardíaca em que se prevê o momento do insulto isquémico, a aplicação do PreCond no EAM c/ ST fica obviamente limitada uma vez que não é possível aplicar ciclos de isquemia / reperfusão na preparação para um evento que já se estabeleceu. Uma forma de avaliar este fenómeno no EAM c/ ST é através da avaliação do impacto clínico da angina pré-enfarte, uma vez que se acredita mimetizar o estímulo oclusão/reperfusão providenciado pelo PreCond<sup>141,142</sup>. Quer na era da fibrinólise, quer na era da angioplastia primária, a angina pré-enfarte tem-se relevado um potente preditor de menor área de enfarte e de melhor prognóstico<sup>143,144</sup>. Através da RMC, foi possível observar que numa série de doentes com EAM c/ ST, os que tiveram angina pré-enfarte até 3 meses anteriores ao evento isquémico, tiveram

maior MSI, independentemente da existência de vasos colaterais<sup>145</sup>. Noutra série, a angina pré-enfarte (qualquer episódio de angina até 7 dias antes do evento isquémico), correlacionou-se com menor área de enfarte, menor quantidade de edema e menor taxa de obstrução microvascular em comparação com doentes assintomáticos<sup>146</sup>. Assumindo-se que o edema e a obstrução microvascular são características da LIR<sup>106,147</sup>, este último trabalho permitiu evidenciar o efeito cardioprotector do PreCond na diminuição da LIR, providenciado pela angina pré-enfarte em humanos.

O intervalo entre o PreCond e a lesão isquémica pode ser variável. Determina-se PreCond “clássico” quando a lesão isquémica é próxima do término do PreCond, ou “tardia”, quando decorre um intervalo temporal entre 48-72h desde o término do PreCond e o início do insulto isquémico sustentado. Em modelos experimentais, verificou-se que a forma clássica confere maior cardioprotecção do que a forma tardia<sup>148</sup>. Na sua correlação clínica, verificou-se que o benefício da angina pré-enfarte era tanto maior quanto mais próxima do EAM c/ ST se se manifestasse<sup>149</sup>. Contudo, nos estudos anteriormente citados, a angina pré-enfarte foi amplamente considerada, estendendo-se até 3 meses antes do enfarte.

Um dos efeitos nocivos da LIR é a indução da apoptose<sup>150-152</sup>. Apesar de a apoptose coexistir com áreas de necrose no miocárdio não reperfundido, julga-se que a morte celular organizada se inicie ainda durante a fase isquémica, mas como se trata de um fenómeno dependente de energia, só se complete durante a reperfusão, o que faz com que este tipo de morte celular seja mais frequentemente identificado após a reperfusão<sup>153</sup>. Acresce, que apesar do pico de necrose ocorrer pelas 24h após início do enfarte, a apoptose atinge o seu máximo pelas 72h, levando a crer que a morte celular “por suicídio organizado” ainda se prolongue para além do momento da reperfusão<sup>154</sup>. A aplicação do PreCond em modelos animais e a forma como este limitava a apoptose<sup>155</sup>, levou a que, em 2004, Yellon e Hausenloy sistematizassem as experiências conhecidas até à data e sugerissem uma via de sinalização intra-celular (em cascata) baptizada de *RISK - Reperfusion Injury Salvage Kinases*, que era responsável, dentre outros mecanismos cardioprotectores, por impedir a apoptose. Mais tarde, em 2009, Lecour descreveria uma segunda via de activação protectora celular, dependente da activação do factor

de necrose tumoral alfa na parede do cardiomiócito, baptizada de *SAFE- Survivor Activating Factor Enhancement*.

Apesar de se conhecerem outras vias de protecção celular da LIR<sup>156</sup>, considera-se que estas são as mais importantes vias envolvidas na protecção do cardiomiócito, fornecendo o substrato a partir do qual se desenham terapêuticas com o objectivo de limitar o dano miocárdico imposto pela reperfusão. Sabe-se que o estímulo efectuado pelo condicionamento isquémico promove a libertação de adenosina, bradiquinina, opioides endógenos e factores de crescimento, que actuam na membrana celular do cardiomiócito (via receptor de citocinas e da proteína-G), promovendo a activação de uma série de mecanismos endógenos (nomeadamente as vias RISK e SAFE), culminando na atenuação da formação de radicais livres, impedindo a abertura do MPTP e bloqueando o estímulo pró-apoptótico durante a reperfusão. Acredita-se que estas vias inatas de protecção celular possam ser sobre-reguladas através de estímulos potentes tais como o pré, o pós e o condicionamento isquémico remoto, uma vez que se acredita partilharem os mesmos receptores conducentes às mesmas vias de protecção celular.<sup>157</sup>

### I.3.6. Pós-condicionamento isquémico

Uma vez que o PreCond requer uma intervenção *antes* da ocorrência do EAM c/ ST limitando assim a sua aplicabilidade neste contexto clínico, em 2003, Zhao e o grupo de Vinten-Johansen descobriu que o coração podia ser protegido da LIR através da interrupção cíclica da reperfusão, o qual foi baptizado de “pós-condicionamento isquémico” (PosCond)<sup>158</sup>. Verificou-se que a reperfusão gradual (em ciclos de oclusão /reperfusão com 30 segundos de duração) *após* o estabelecimento da oclusão coronária, proporcionava o mesmo efeito cardioprotector que o PreCond, objectivando-se, em ambos os grupos e na mesma magnitude, redução da área de enfarte em comparação com o grupo de controlo. Ou seja, descobrira-se um método capaz de mimetizar o PreCond com a vantagem deste poder ser utilizado *a posteriori*, ou seja, após a oclusão coronária se ter estabelecido, indo ao encontro da realidade clínica do doente com EAM c/ ST e fácil de executar durante a ICP. Acredita-se que o PosCond partilhe muitas das vias celulares recrutadas pelo PreCond<sup>136,157</sup>.



Em 2005, foi publicado o primeiro estudo clínico (com apenas 30 doentes) comparando-se a reperfusão por angioplastia acompanhada de PosCond com a reperfusão convencional<sup>159</sup>. Verificou-se que a área de enfarte estimada pelo pico de CK foi menor no grupo submetido a PosCond, através de 4 ciclos de 60 segundos de insuflação / desinsuflação do balão de angioplastia. Mais tarde, em 2010, Lonborg publicou um trabalho com 118 doentes em que a área de enfarte avaliada por RMC foi menor no grupo submetido a PosCond. Ou seja, esta forma de “reperfusão suave” parecia ser a peça que faltava para limitar o dano miocárdico imposto pela reperfusão. Em 2012 foi publicado um trabalho aleatorizado com 50 doentes, verificando-se que a extensão do enfarte e do edema miocárdico avaliados por RMC foi menor no grupo submetido a PosCond<sup>160</sup>. No entanto, três importantes estudos publicados entre 2012 e 2013 (também utilizando a RMC para avaliação da área final de enfarte), e um estudo com 700 doentes avaliando-se resultados clínicos, enzimáticos e angiográficos, não confirmaram os resultados anteriores<sup>161-164</sup>. Embora uma meta-análise de 2014 englobando a evidência até então disponível concluísse que o PosCond poderia reduzir a área de enfarte avaliado por enzimologia cardíaca, quando esta era exclusivamente avaliada através de RMC, essa vantagem desaparecia<sup>165</sup>. Outra meta-análise, mais recente e também englobando os estudos aleatorizados publicados até 2014, sugere que o PosCond reduza a área de enfarte; contudo, essa análise fica limitada pela forte heterogeneidade metodológica dos diversos estudos<sup>166</sup>.

Acredita-se que a janela temporal para que o PosCond seja eficaz seja estreita, admitindo-se, que após o primeiro minuto de reperfusão, a eficácia do PosCond seja pequena<sup>167</sup>. Numa experiência com ratinhos submetidos a PosCond, verificou-se que o efeito benéfico desta manobra diminuía à medida que se afastava do início da reperfusão coronária, e que as alterações celulares dependentes da LIR (como a taxa de apoptose), persistiam após várias horas. Mas também se constatou, que o PosCond ainda fora eficaz quando aplicado horas após o início da reperfusão. No global, postulou-se que a LIR também será um processo contínuo nas horas ou dias subsequentes à reperfusão, e que pode ser mitigada pelo PosCond<sup>168</sup>. Esta experiência abriu uma janela de oportunidade para a aplicação do PosCond em doentes que se apresentem com a artéria coronária espontaneamente reperfundida,

e por isso ainda sensíveis à manobra cardioprotectora (PosCond tardio). Consequentemente, o mesmo grupo testou esta hipótese numa pequena série de doentes com EAMc/ST que haviam sido tratados por fibrinólise ou que se apresentassem com a artéria espontaneamente reperfundida (fluxos TIMI 2-3). Infelizmente, a manobra do PosCond tardio não trouxe benefício em comparação com a angioplastia simples questionando-se, mais uma vez, a eficácia desta manobra na prática clínica corrente<sup>169</sup>. Contudo, tratava-se de um estudo que apesar de aleatorizado, continha várias limitações, nomeadamente ao desconhecer-se o momento exacto em que se dera a reperfusão coronária. Posteriormente, o estudo aleatorizado POSTEMI publicado em 2014 com 136 doentes em cada braço, mostrou que o PosCond não teve impacto na redução da área de enfarte quando comparado com a angioplastia convencional<sup>170</sup>. E finalmente, o estudo DANAMI-3iPOST, que após 2 anos de seguimento de mais de 1000 doentes recrutados, mostrou que o PosCond não reduziu o *endpoint* primário combinado de mortalidade por qualquer causa ou internamento por insuficiência cardíaca; contudo, como *endpoint* secundário, objectivou-se melhoria significativa da FEVE no grupo submetido a tratamento, mais notória no subgrupo de doentes com enfarte da parede anterior<sup>171</sup>. Uma meta-análise recentemente aceite para publicação que incorpora este último estudo, conclui que os doentes submetidos à manobra do PosCond têm maior taxa de fluxo TIMI 3, de MBG 2-3, e de melhor FEVE no *follow-up*; contudo, e pese embora a heterogeneidade dos estudos, não se verifica que o PosCond diminua a área de enfarte, a mortalidade global, o re-enfarte, a trombose de *stent* ou o internamento por insuficiência cardíaca<sup>172</sup>. Em face da possível melhoria da FEVE no *follow-up*, talvez seja lícito especular, que o PosCond possa ter impacto clínico se o seguimento for mais longo, e que englobe exclusivamente doentes com enfarte da parede anterior.

### **I.3.7. Condicionamento remoto**

Em 1993, Przyklenk e colaboradores fizeram a intrigante descoberta que ao aplicar o PreCond num território coronário, obtinha-se cardioproteção noutra território miocárdico, sugerindo-se que a cardioprotecção pudesse ser “transferida” para outra região anatómica<sup>173</sup>. Mais tarde, verificou-se que a área de enfarte

poderia ser limitada após a aplicação de breves ciclos de isquemia / reperfusão no intestino ou no rim<sup>174</sup>, baptizando-se esta forma de protecção de “condicionamento isquémico remoto” (CondRem).

Embora o mecanismo exacto por detrás deste efeito não se conheça em detalhe, acredita-se que o efeito protector no órgão alvo partilhe as mesmas vias do PreCond e do PosCond. Parece, contudo, que além de ser necessário o transporte de substâncias libertadas no órgão remotamente submetido ao condicionamento isquémico através da corrente sanguínea, outra não menos importante via para que o estímulo seja exercido à distância, é a neuronal. Com efeito, verificou-se que em animais submetidos a secção neuronal o CondRem não se manifestava, o que pode ajudar a explicar a sua limitação clínica em doentes com neuropatia diabética<sup>175</sup>.

A sua aplicação no EAM c/ ST, tem sido estudada através da insuflação / desinsuflação de um manguito de pressão arterial no membro superior do doente durante a oclusão e *antes* da reperfusão (per-condicionamento remoto), *após* a reperfusão (pós-condicionamento remoto), ou até 15-30 minutos *após* a reperfusão (pós-condicionamento remoto tardio), tendo sido aplicado quer em situações de isquemia planeadas (como cirurgia cardíaca ou angioplastia em doentes estáveis), quer no EAM c/ ST. Contrariamente ao PosCond, os resultados clínicos do CondRem têm-se mostrado muito promissores, quer o estímulo seja efectuado antes<sup>176-178</sup>, ou durante a reperfusão coronária<sup>179</sup>. A análise clínica do estudo CONDI, que recrutou 333 doentes entre 2007 e 2008, mostrou que o grupo submetido a condicionamento remoto teve menor taxa de eventos cardiovasculares adversos compostos para uma mediana de 3,8 anos de seguimento<sup>177</sup>. No estudo LIPSIA-CONDITIONING (n=696, o maior até à data), verificou-se que apenas os doentes submetidos a CondRem *antes* da reperfusão combinado de PosCond no momento da angioplastia coronária, tiveram maior MSI em comparação com os restantes grupos em estudo (angioplastia simples ou angioplastia + PosCond)<sup>180</sup>. Para conhecer melhor o seu efeito clínico, temos de aguardar os resultados do RIC-STEMI<sup>181</sup>, e do CONDI-2/ERIC-PPCI, um estudo transnacional e multicêntrico que pretende recrutar 4300 doentes, submetidos a 4 ciclos de 5 minutos de isquemia / reperfusão do membro superior antes da angioplastia primária<sup>182</sup>.

### I.3.8. Condicionamento/cardioprotecção farmacológica

A história da cardioprotecção farmacológica como adjuvante da reperfusão, tem sido em grande medida decepcionante. Agentes anti-inflamatórios, antioxidantes, eritropoietina, magnésio, nicorandil, bloqueadores dos canais de cálcio, foram todos ineficazes na diminuição da área de enfarte, sendo que apenas a adenosina demonstrara vantagem nalgumas séries, ainda que marginal<sup>115,138</sup>. Uma das virtudes do conhecimento gerado pelo estudo do condicionamento isquémico, foi permitir conhecer a que nível aqueles fármacos actuavam no sentido de limitar a LIR. Foi o caso das estatinas, que parecem ter elevado poder pré-condicionante (via activação do RISK), o que justifica que doentes cronicamente tratados com estatina tenham menor área de enfarte (em sede de EAM c/ ST), ou menor taxa de enfarte peri procedimento (nos casos de angioplastia programada ou cirurgia de by-pass aorto-coronário). Contudo, a sua administração em alta dose em doentes não anteriormente medicados durante a reperfusão, não promoveu a cardioprotecção esperada<sup>183</sup>. Mas o conhecimento das vias celulares da LIR, possibilitou também que se desenhassem drogas inovadoras capazes de mimetizar o seu efeito quer a nível da activação de receptores celulares, quer a nível das vias sinalizadoras intracelulares, quer directamente no MPTP<sup>183</sup>.

Em teoria, os agentes mais promissores seriam aqueles que actuassem na fase final das vias cardioprotectoras promovidas pelo condicionamento isquémico, nomeadamente a nível mitocondrial. Um dos fármacos mais promissores foi a ciclosporina A, que ao inibir a abertura do MPTP, se comportaria como um agente “pós-condicionante”. Infelizmente, após o entusiasmo obtido em modelos animais e em estudos piloto, não apenas a ciclosporina A<sup>184</sup>, mas também o bendavia (MTP-131)<sup>185</sup> e o TRO40303<sup>186</sup> não obtiveram o impacto clínico desejado. Por outro lado, estudos piloto com o exenatide (um análogo do *glucagon-like peptide-1* que reduziu a área de enfarte em modelos animais, através da estimulação das mesmas vias intracelulares cardioprotectoras – RISK – do condicionamento isquémico)<sup>187</sup>, o péptido natriurético auricular (que actua na via RISK e no MPTP)<sup>188</sup> e em particular o metoprolol<sup>189,190</sup>, revelaram resultados muito promissores. Contudo, o recentemente publicado EARLY-BAMI (administração intra-venosa de metoprolol antes da angioplastia, aleatorizado e duplamente cego) não confirmou os resultados

anteriormente obtidos no METOCARD-CNIC (que não era controlado por placebo nem duplamente cego, mas que todavia recrutou doentes com enfarte da parede anterior e sem pré tratamento com bloqueador beta); ou seja, a administração intravenosa de metoprolol antes da angioplastia numa série de doentes com EAM c/ ST até 12 de sintomas, não fez reduzir a área de enfarte avaliado por RMC<sup>191</sup>. Algumas causas podem ter concorrido para estes resultados decepcionantes (ver adiante). Outra classe de drogas com papel cardioprotector é a dos opioides. Apesar do seu mecanismo cardioprotector ser ainda pouco conhecido, acredita-se que exerça a sua acção através da activação de receptores na membrana celular com a consequente activação da cascata RISK<sup>183</sup>. Numa série com 96 doentes, Rentoukas e colaboradores demonstraram que a co-administração de morfina à aplicação do CondRem *antes* do início da reperfusão por angioplastia, proporcionou menor área de enfarte quando comparada com o CondRem (isoladamente) ou com os controlos (sem ComdRem ou morfina), postulando-se que as vias de cardioprotecção possam ser potenciadas se se combinarem diferentes estímulos, quer actuem ou não no mesmo alvo<sup>192</sup>. Finalmente, o mais recente trabalho, o NACIAM, foi apresentado no congresso europeu de Cardiologia 2016 (Roma)<sup>193</sup>. Neste estudo, verificou-se que a administração intravenosa de N-acetilcisteína (a iniciar antes da reperfusão por angioplastia) não apenas fez reduzir a área de enfarte avaliada por RMN aos 8 dias, como também reduziu a taxa de mortalidade e de re-internamento aos 2 anos de seguimento. O mecanismo protector da N-acetilcisteína parece ser a neutralização e eliminação dos radicais livres produzidos durante a LIR. Contudo, apesar de promissor, trata-se de um estudo piloto com um total de 112 doentes, e por isso a necessitar confirmação em séries de maior dimensão.

## II – OBJECTIVOS

No final de 2011, ano da proposta de tese, os principais estudos envolvendo o PosCond continham uma lacuna que nos parecia importante explorar. Em teoria, concebeu-se que o PosCond pudesse ser neutralizado pela microembolização gerada pela pré-dilatação da oclusão coronária, ou até pela própria manobra do PosCond. Por exemplo, num dos estudos<sup>161</sup>, a trombectomia fora utilizada em apenas 13% dos casos submetidos a PosCond, enquanto que noutro<sup>162</sup>, os autores salientam a técnica do “*stent* directo” para todos os doentes incluídos, sem mencionarem como é que avaliavam correctamente o calibre da artéria ou a extensão da placa coronária (aceitando-se que o “*stent* directo” poderia limitar a microembolização distal, a verdade é que a oclusão não fora nem pré-dilatada na grande maioria dos casos, nem a trombectomia aspirativa fora utilizada). Sendo certo que à data a trombectomia aspirativa era bem mais popular que actualmente, postulou-se que combinando a TAM com o PosCond se pudesse reduzir a área de enfarte, sendo este o objectivo principal da tese. Outros objectivos de suporte ao tema principal, foram:

- Reconhecendo o papel do PreCond como potente estímulo cardioprotector e sabendo-se das limitações temporais dos estímulos cardioprotectores, procurou-se avaliar o papel da angina pré-enfarte numa série de doentes tratada por angioplastia primária, tendo em conta a sua relação com o tempo de sintomas até à reperfusão.
- Reapreciar o papel da TAM na redução da extensão final do enfarte, com especial enfoque para a sua eficácia no restabelecimento do fluxo no segmento coronário ocluído, e estudar a interação entre a eficácia da TAM e a AER.
- Estudar o efeito modulador do PosCond na apoptose, através do doseamento do *Serum TNF-apoptosis induced ligand (sTRAIL)* numa série de doentes submetidos à manobra do PosCond.

### III – MÉTODOS E RESULTADOS (PUBLICAÇÕES)

De acordo com o Artigo 34º do Decreto-Lei nº 115/2013, foram utilizados para esta tese os resultados constantes nos seguintes trabalhos aceites para publicação, na forma de artigo completo:

**1. Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction.**

Luz A, Santos M, Rodrigues P, Sousa MJ, Anjo D, Silveira I, Brochado B, Silveira J, Cabral S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S. *Coron Artery Dis.* 2015 Jan;26(1):22-9.

**2. Thrombus aspiration for reperfusion in myocardial infarction: Predictors and clinical impact of ineffectiveness.**

Luz A, Rodrigues P, Sousa MJ, Silveira I, Anjo D, Brochado B, Santos M, Silveira J, Cyrne Carvalho H, Torres S. *Rev Port Cardiol.* 2014 Dec;33(12):753-60.

**3. Lack of Benefit of Ischemic Postconditioning After Routine Thrombus Aspiration During Reperfusion: Immediate and Midterm Results.**

Luz A, Santos M, Magalhães R, Silveira J, Cabral S, Dias V, Oliveira F, Pereira S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2015 Nov;20(6):523-31.

**4. Soluble TNF-related apoptosis induced ligand (sTRAIL) is augmented by Post-Conditioning and correlates to infarct size and left ventricle dysfunction in STEMI patients: a substudy from a randomized clinical trial.**

Luz A, Santos M, Magalhães R, Oliveira JC, Pacheco A, Silveira J, Cabral S, Torres S, Leite-Moreira AF, Carvalho H. *Heart Vessels.* 2017 Feb;32(2):117-125.

**5. Manual Thrombectomy Efficiency in Relationship to the Area at Risk in Patients with Myocardial Infarction with TIMI 0-1 coronary flow. Insights from an all comers registry.**

Luz A, Silveira I, Brochado B, Rodrigues P, Sousa MJ, Santos R, Trêpa M, Santos M, Silveira J, Torres S, Leite-Moreira AF, Carvalho H. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2017 Feb 13. doi: 10.1002/ccd.26959. [Epub ahead of print]



**1. Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction.**

Luz A, Santos M, Rodrigues P, Sousa MJ, Anjo D, Silveira I, Brochado B, Silveira J, Cabral S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S. *Coron Artery Dis.* 2015 Jan;26(1):22-9.

## Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction

André Luz<sup>a</sup>, Mário Santos<sup>a,c</sup>, Patrícia Rodrigues<sup>a</sup>, Maria João Sousa<sup>a</sup>, Diana Anjo<sup>a</sup>, Inês Silveira<sup>a</sup>, Bruno Brochado<sup>a</sup>, João Silveira<sup>a</sup>, Sofia Cabral<sup>a,b</sup>, Adelino Leite-Moreira<sup>c</sup>, Henrique Carvalho<sup>a,b</sup> and Severo Torres<sup>a,b</sup>

**Objectives** Preinfarction angina (PIA) may play a protective role in patients with ST-elevation myocardial infarction. Data on the relationship between PIA and time to reperfusion are scarce. We aimed to assess infarct size by peak troponin-T (TnT) in patients with or without PIA in three different time intervals to a primary percutaneous coronary intervention (PPCI), the relationship between PIA and left ventricular ejection fraction, and its impact on midterm survival.

**Patients and methods** Single-center, retrospective analyses were carried out of 575 consecutive PPCI-treated patients, divided into three groups from symptom onset to reperfusion: less than 3, 3–6, and greater than 6 h.

**Results** Patients with PIA had smaller infarct size [TnT = 3.76 (5.07) vs. 5 (6.12) ng/ml,  $P = 0.024$ ]. Infarct size of patients with PIA versus no-PIA was lower for patients presenting within 3–6 h from onset of symptoms [3.73 (5.38) vs. 5.53 (6.9) ng/ml,  $P = 0.028$ ], but not different for those who presented less than 3 h [4.15 (5.53) vs. 4.0 (3.96) ng/ml,  $P = 0.702$ ] nor for those who presented greater than 6 h [3.65 (4.24) vs. 5.0 (5.9) ng/ml,  $P = 0.141$ ]. On multivariate analyses, only PIA protected from moderate to severe left ventricle dysfunction (odds ratio = 0.557, 95% confidence interval: 0.352–0.881,  $P = 0.012$ ), but failed to reduce overall

mortality [hazard ratio = 0.784, 95% confidence interval: 0.356–1.724,  $P = 0.545$ ; median follow-up time = 23 (20) months].

**Conclusion** PPCI-treated patients within 3–6 h from symptom onset had smaller infarcts if they had experienced PIA, with no benefit for those who presented less than 3 h nor for those who presented greater than 6 h from symptom onset. Moderate to severe left ventricle dysfunction was less prevalent in PIA patients. However, PIA failed to have an independent impact on midterm survival. *Coron Artery Dis* 00:000–000 © 2014 Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins.

Coronary Artery Disease 2014, 00:000–000

Keywords: myocardial infarction, preconditioning, preinfarction angina

<sup>a</sup>Department of Cardiology, Porto Hospital Center, <sup>b</sup>Institute of Biomedical Sciences of 'Abel Salazar' and <sup>c</sup>Department of Physiology and Cardiothoracic Surgery, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal

Correspondence to André Luz, MD, Department of Cardiology, Porto Hospital Center, Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto, Portugal  
Tel: +351 91 8167095; fax: +351 222 053 218;  
e-mail: andrecoimbraluz@hotmail.com

Received 26 April 2014 Revised 4 July 2014 Accepted 7 July 2014

### Introduction

It is well established that timely restoration of coronary blood flow in ST-elevation myocardial infarction (STEMI) by a primary percutaneous coronary intervention (PPCI) is of paramount importance to limit infarct size and to decrease mortality [1]. However, part of the infarct size may be related to the reperfusion itself. This has led to huge interest in the field of cardioprotection to overcome the so-called reperfusion–injury phenomenon [2–7]. Cardioprotection because of the mechanism of ischemic preconditioning (PreCon) rendered by preinfarction angina (PIA) is recognized as a powerful stimulus to limit myocardial injury [8]. Nevertheless, the effect of PIA in the era of PPCI has yielded mixed results [9–13].

Several studies have shown that beyond 6 h from coronary occlusion, myocardial salvage is severely compromised and infarct size is larger [14–16]. Still, many patients arrive late to reperfusion [17]. In theory, PIA

could expand the window of opportunity to myocardial salvage because of either the classical or the delayed [18,19] forms of PreCon.

The exact moment where conditioning exerts its cardioprotective effects from ischemia to reperfusion is unknown. Experiments in the field of cardioprotection estimate that the time window to adopt measures that limit ischemia–reperfusion injury ranges between 3 and 6 h from onset of ischemia, with limited effects above or below that threshold [2,8,15,20,21]. Therefore, the protection conferred by PIA may be abolished by the duration of ischemia, meaning that achieving reperfusion too soon or too late may abrogate the effects of PreCon. In accordance to clinical and preclinical data, our objective was to examine the impact of PIA on myocardial infarct size of PPCI-treated STEMI patients presenting at three different time frames to PPCI: less than 3, 3–6, and greater than 6 h. Moreover, we aimed to evaluate its

impact on left ventricular ejection fraction (LVEF) and overall midterm survival.

## Patients and methods

### Study population and definitions

A retrospective study of STEMI patients who underwent PPCI from January 2008 to December 2013 in a tertiary center within 12 h from symptom onset was carried out. Patients with bypass grafts were excluded. We collected clinical and laboratory data from a prospective database and from medical electronic records. The diagnosis of STEMI was made on the basis of clinical grounds and ECG changes as described elsewhere [22]. Coronary angiograms were reviewed by two senior intervention cardiologists. Only patients with a culprit lesion clearly responsible for the infarct and who underwent PPCI were considered.

A mandatory questionnaire needs to be filled by the attending physician for each admission to the coronary care unit. Along with other clinical parameters, PIA was systematically assessed and was defined as at least one episode of typical chest or left arm or jaw pain, either at rest or during exercise, occurring in the preceding week before the diagnosis of STEMI. For this study, we reviewed the clinical examination at admittance for each patient. Total ischemic time (TIT) was the time elapsed from symptom onset (time when chest pain becomes more intense and sustained) to the passage of the coronary guidewire. GRACE [23] and thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) scores for STEMI [24] were determined. The GRACE score utilized refers to the prediction of the risk of death/myocardial infarction from admission to 6 months. SYNTAX [25] score version 2.11 was calculated by scoring all coronary lesions with a diameter stenosis of more than 50% in vessels more than 1.5 mm by two senior interventional cardiologists. The infarct-related artery with the TIMI 0 flow artery was scored as an occlusion of less than 3 months' duration.

The myocardium area at risk (AAR) was estimated by the angiographic modified APPROACH (modAPP) score. The APPROACH (Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Diseases) score was originally described by Brandt *et al.* [26] and further refined in pathological studies [27]. Ortiz-Pérez *et al.* [28] created a template that calculates the jeopardized myocardium (in percentage) for a given site of occlusion in the coronary tree. In the scenario of left main occlusion, proximal left descendant artery and left circumflex scores were added.

Creatinine clearance (CreatCl) was calculated using the Cockcroft–Gault formula. The no-reflow phenomenon was diagnosed if there was no flow limiting in the occluded lesion after thrombectomy, balloon predilatation or stent placement, associated with the angiographic documentation of either coronary TIMI flow of less than

2, or TIMI 2–3 associated with a TIMI myocardial perfusion grade of 0 (when contrast failed to enter microvasculature), or 1 (contrast entered but failed to exit microvasculature) persisting after nitroglycerine and adenosine intracoronary administration, in the absence of dissection, spasm, or thrombus.

### Infarct size

Per local protocol, blood samples were collected at admission, 6, 12, and 24 h after PCI, followed by every 24 h until discharge. Cardiac troponin-T (TnT) concentration in plasma was measured on a third-generation Elecsys Modular Analytics e170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Creatine kinase (CK) activity in plasma was measured on a Roche Cobas 8000 analyser (c701 module; Roche Diagnostics). TnT is one of the preferred biomarkers to assess for myocardial necrosis [22]. Peak TnT levels have shown a good correlation with the final infarct size as evaluated by both scintigraphy and cardiac MRI (cMRI); thus we utilized it to estimate the final infarct size [29,30].

### Left ventricular ejection fraction

LVEF was determined by 2D echocardiography (Phillips iE33; Phillips, Eindhoven, the Netherlands) in each patient using the biplane Simpson method. Normal resting LVEF was considered for values at least 55%, mild impairment for values ranging from at least 45–55%, moderate impairment for values ranging from at least 30–45%, and severe impairment for values less than 30%. The LVEF was calculated, by consensus, by at least two of four senior echocardiographers at our center.

### Mortality

Vital status during follow-up was assessed by reviewing the medical records of our institution or from information provided by the attending physician. We assessed raw cumulative mortality (cardiac and noncardiac related) from hospital admission to follow-up.

### Percutaneous coronary intervention and medication

All patients were loaded with aspirin (500 mg) and clopidogrel (600 mg) before PPCI, except if they were already on these medications; unfractionated heparin 70 U/kg was administered intravenously. Manual thrombectomy, type of stent, glycoprotein (Gp) 2b/3a inhibitors, or any other adjunct medication or device were left at the operator's discretion. Following PPCI, all patients were admitted to the coronary care unit, where evidence-based medications were administered accordingly. Patients were instructed to maintain aspirin and clopidogrel for at least 1 year irrespective of the type of stent.

### Statistical analyses

The Kolmogorov–Smirnov test evaluated the normality assumptions of all continuous variables, expressed as mean  $\pm$  SD or median (IQR) as appropriate.

Categorical variables were expressed as counts (%) and compared with Pearson  $\chi^2$ . Comparison of continuous variables was performed using an independent Student's *t* test (two groups) or analysis of variance (more than two groups) for normally distributed data, and Mann–Whitney (two groups) or Kruskal–Wallis (more than two groups) tests for data with a non-Gaussian distribution. Patients were divided into three subgroups by visual binning according to the estimated TTT: those with less than 3, 3–6, and greater than 6 h from symptom onset. Logarithmic transformation ( $\log_{10}$ ) of peak CK, CK-mass, and TnT was carried out to correct for skewness and to allow for parametric statistics. Predictors of infarct size assessed by peak TnT were calculated by general linear regression among all the possible independent variables. LVEF was dichotomously divided between normal/mild versus moderate/severe impairment. Variables that by univariate analyses had a *P*-value of less than 0.1 were included in a logistic stepwise multivariate analysis with the two categories of LVEF as the outcome. To avoid overadjustment, GRACE and TIMI scores were excluded from the regression models. Mortality at follow-up was estimated using the Kaplan–Meier method; comparison between groups was performed using the log-rank test. Cox proportional hazards regression was generated to estimate the hazard ratio (HR) for mortality. Variables with *P*-value less than 0.1 in the univariate analyses for mortality were entered into multivariate analyses. The *G*-statistic for GRACE and the TIMI score for mortality were calculated. All tests were two-sided; *P*-value less than 0.05 was considered significant. All data were analyzed using SPSS v.20 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

## Results

Of a total of 614 patients, we excluded 39 because of missing data and analyzed the remaining 575 PPCI-treated STEMI patients. Two hundred and two patients had PIA and 373 patients did not have PIA (no-PIA). Tables 1 and 2 present the clinical and procedural variables across groups. Overall, PIA and no-PIA were well balanced across clinical and procedural characteristics, including preprocedural TIMI flow and absence of significant collateral circulation (Rentrop grade 0–1). A higher proportion of serious heart insufficiency at admission (Killip class 3–4) was found for the group without PIA. Peak enzymatic values were lower for the PIA group; in-hospital mortality trended to be lower (Table 3). One hundred and sixty-two patients (28.9%) were found to have TTT less than 3 h, 210 (34.4%) to have 3–6 h, and 189 (37.7%) to have greater than 6 h, with no differences in the proportion of PIA versus no-PIA (*P*=0.364).

## Infarct size

Relevant to the infarct size and to the presumed effects of conditioning [5,6,31], several variables were entered

**Table 1 Baseline characteristics**

Characteristics	PIA (n = 202)	No-PIA (n = 373)	<i>P</i> -value
<b>Demographics and risk factors</b>			
Age (mean $\pm$ SD) (years)	63.55 $\pm$ 12.86	62.54 $\pm$ 13.61	0.387
Male [n (%)]	151 (74.8)	271 (72.7)	0.587
Diabetes [n (%)]	52 (25.7)	93 (24.9)	0.831
Hypercholesterolemia [n (%)]	117 (57.9)	208 (55.8)	0.618
Hypertension [n (%)]	128 (63.7)	203 (54.4)	0.032
Active smoker [n (%)]	95 (47.3)	214 (57.4)	0.020
BMI (mean $\pm$ SD) (kg/m <sup>2</sup> )	26.51 $\pm$ 3.66	26.46 $\pm$ 3.61	0.878
Known peripheral arteriopathy [n (%)]	16 (8)	32 (8.6)	0.798
Previous MI (any) [n (%)]	12 (6)	31 (8.4)	0.302
Creatinine (mg/dl) (IQR)	0.91 (0.34)	0.91 (0.39)	0.587
Creatinine clearance (mean $\pm$ SD) (ml/min)	85.30 $\pm$ 35.55	86.57 $\pm$ 38.45	0.698
Hemoglobin (mg/dl) (IQR)	14.1 (2.5)	14.0 (2.4)	0.725
<b>Ongoing medications [n (%)]</b>			
$\beta$ -Blocker	26 (13.1)	40 (10.8)	0.430
Statin	47 (23.5)	76 (20.6)	0.422
ACE inhibitor	36 (18.1)	67 (18.2)	0.984
Angiotensin receptor blocker	41 (20.6)	53 (14.4)	0.056
Calcium channel blocker	14 (7)	43 (11.7)	0.081
Aspirin	30 (15.1)	50 (13.6)	0.618
Clopidogrel	6 (3)	17 (4.6)	0.358
Insulin	9 (4.5)	17 (4.6)	0.973
Oral antidiabetics	35 (17.7)	63 (17.1)	0.856
Nitrates	10 (5.1)	17 (4.6)	0.813

ACE, angiotensin-converting enzyme; MI, myocardial infarction; PIA, preinfarction angina.

**Table 2 Procedural and angiographic characteristics**

Characteristics	PIA (n = 202)	No-PIA (n = 373)	<i>P</i> -value
<b>Interval times (min)</b>			
Total ischemic time (IQR)	240 (346)	240 (275)	0.546
Door-to-balloon (IQR)	80 (85)	80 (70)	0.304
Systolic arterial pressure (mean $\pm$ SD) (mmHg)	123.3 $\pm$ 25.8	120.6 $\pm$ 26.5	0.240
<b>Culprit vessel [n (%)]</b>			
LAD	86 (42.5)	155 (41.6)	
LCX	21 (10.4)	55 (14.7)	
RCA	92 (45.5)	159 (42.6)	
Left main	3 (1.5)	4 (1.1)	
<b>TIMI flow at presentation [n (%)]</b>			
0–1	180 (89.0)	343 (91.9)	0.885
2–3	22 (10.9)	30 (8.0)	
<b>Rentrop grade at presentation [n (%)]</b>			
0–1	185 (91.6)	331 (88.7)	0.498
2–3	17 (8.4)	42 (11.3)	
<b>Procedural [n (%)]</b>			
Radial approach	108 (53.4)	186 (49.9)	0.378
IIb/IIIa inhibitors	62 (31)	105 (28.1)	0.524
Thrombectomy utilization	147 (72.7)	266 (71.3)	0.747
IABP insertion	6 (3)	10 (2.7)	
<b>Type of stent/balloon</b>			
Drug-eluting stent [n (%)]	122 (60.4)	199 (53.4)	0.138
Bare-metal stent [n (%)]	72 (35.6)	147 (39.4)	
Balloon angioplasty only [n (%)]	8 (4)	27 (7.2)	
<b>Number of stents implanted/patient (IQR)</b>			
SYNTAX score (IQR)	175 (13.5)	175 (11.5)	0.465
Modified APPROACH score (IQR)	275 (12.25)	275 (11.2)	0.326
GRACE score (IQR)	216 (39)	213 (54)	0.388
TIMI score (IQR)	3 (3)	3 (3)	0.295
Killip class 3–4 [n (%)]	14 (7)	55 (14.8)	0.006
No-reflow phenomenon [n (%)]	10 (5)	26 (7)	0.328
PCI on other vessel(s) (same stay) [n (%)]	46 (22.9)	62 (16.7)	0.075

IABP, intra-aortic balloon pump; LAD, left anterior descending artery; LCX, left circumflex artery; RCA, right coronary artery; PCI, percutaneous coronary intervention; PIA, preinfarction angina; TIMI, thrombolysis in myocardial infarction.

Table 3 In-hospital outcomes

Characteristics	PIA (n = 202)	No-PIA (n = 373)	P-value
Peak CK (U/l) (IQR)	1513 (2083)	2135 (2307)	< 0.001 <sup>a</sup>
Peak CK-mass (U/l) (IQR)	141.5 (175.7)	214 (207.5)	< 0.001 <sup>a</sup>
Peak TnT (IQR)	3.76 (5.07)	5 (6.12)	0.024 <sup>a</sup>
LVEF (n = 544) [n (%)]			0.030
Preserved/mild dysfunction	137 (69.5)	209 (60.2)	
Moderate/severe dysfunction	60 (30.5)	138 (39.8)	
Mortality [n (%)]	11 (5.4)	36 (9.7)	0.079
Length of stay (days) (IQR)	6 (3)	6 (4)	0.691
Medication at discharge [n (%)]			
β-Blocker	176 (92.1)	313 (92.9)	0.757
ACE inhibitor/ARB	146 (76.4)	252 (74.8)	0.670
Statin	186 (97.4)	330 (97.7)	0.689

ACE, angiotensin-converting enzyme; ARB, angiotensin receptor blocker; CK, creatine kinase; LVEF, left ventricular ejection fraction; PIA, preinfarction angina; TnT, troponin-T.

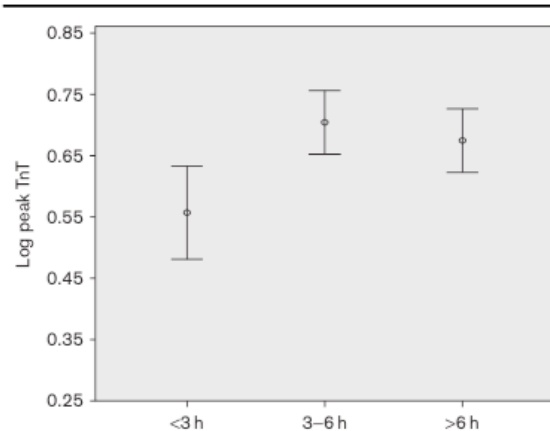
<sup>a</sup>Compared by analyses of variance after logarithmic transformation.

into the regression equation. Age, sex, diabetes, smoking, PIA, previous myocardial infarction, ongoing medication, thrombectomy, Gp2b/3a utilization, CreatCl, BMI, SYNTAX, and modAPP scores were all entered into multivariate regression using a stepwise method. The modAPP score [ $B = 0.113$ , 95% confidence interval (CI): 0.068–0.158,  $P < 0.001$ ], the SYNTAX score ( $B = 0.089$ , 95% CI: 0.037–0.14,  $P = 0.001$ ), utilization of thrombectomy ( $B = 1.498$ , 95% CI: 0.456–2.54,  $P = 0.005$ ), and Gp2b/3a inhibitors ( $B = 1.105$ , 95% CI: 0.074–2.136,  $P = 0.036$ ) all independently predicted higher peak TnT, whereas higher CreatCl ( $B = -0.24$ , 95% CI:  $-0.036$  to 0.011,  $P < 0.001$ ) and PIA ( $B = -1.316$ , 95% CI:  $-2.251$  to 0.382,  $P = 0.006$ ) were independently related to lower peak TnT. As expected, patients who presented later had higher peak TnT values (Fig. 1). When patients were divided into the aforementioned three time intervals (Fig. 2), PIA resulted in reduced infarct size to the subgroup confined to 3–6 h [3.73 (5.38) vs. 5.53 (6.9) ng/ml,  $P = 0.028$ ], with no impact for those who presented less than 3 h [4.15 (5.53) vs. 4.0 (3.96) ng/ml,  $P = 0.702$ ] nor for those who presented greater than 6 h [3.65 (4.24) vs. 5.0 (5.9) ng/ml,  $P = 0.141$ ] from symptom onset ( $P$ -values obtained after log transformation of peak TnT).

#### Left ventricular ejection fraction

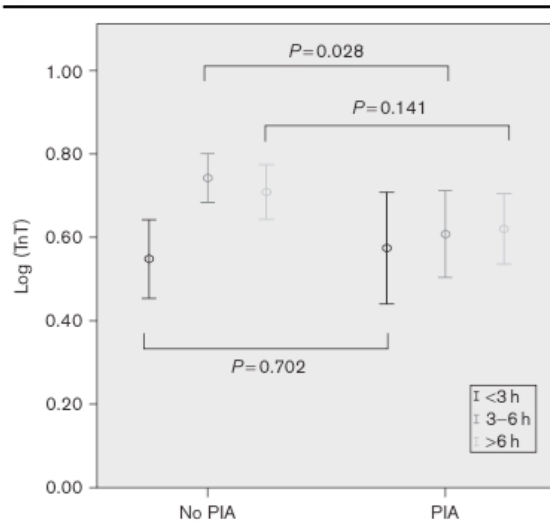
Five hundred and forty-four (92.5%) patients underwent an in-hospital echocardiographic evaluation ( $4.2 \pm 1.5$  days for PIA and  $4.0 \pm 1.9$  for no-PIA,  $P = 0.576$ ). Overall, patients with PIA had better LVEF ( $47 \pm 10$  vs.  $45 \pm 11\%$ ,  $P = 0.023$ ). LVEF was correlated inversely to infarct size ( $r = -0.472$ ,  $P < 0.001$ ). Univariate and multivariate analyses to predict moderate to severe left ventricle dysfunction are shown in Table 4. ModAPP score [odds ratio (OR) = 1.065, 95% CI: 1.042–1.088,  $P < 0.001$ ], SYNTAX score (OR = 1.039, 95% CI: 1.013–1.066,  $P = 0.003$ ), TIT (OR = 1.001, 95% CI: 1.000–1.002,  $P = 0.004$ ), and peak TnT (OR = 1.086, 95% CI: 1.039–1.135,  $P < 0.001$ ) were independent predictors for moderate to severe dysfunction, whereas PIA was the only protective variable

Fig. 1



Log-transformed peak troponin-T (TnT) at three time intervals of total ischemic time. Significant differences were found between group less than 3 versus 3–6 h ( $P = 0.002$ ) and less than 3 versus greater than 6 h ( $P = 0.022$ ). Bars indicate 95% confidence interval.

Fig. 2



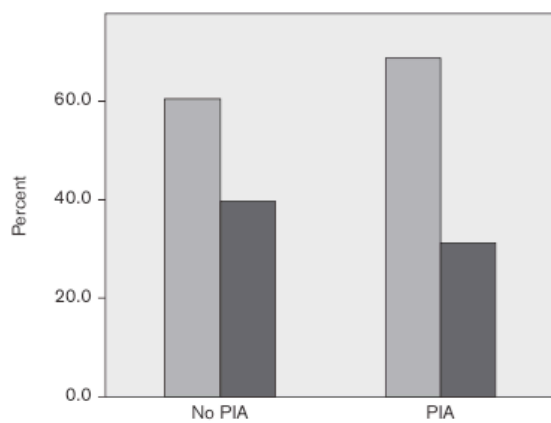
Patients presenting less than 3, 3–6, and greater than 6 h from symptom onset versus mean log (peak TnT) according to preinfarction angina (PIA). Bars indicate a 95% confidence interval. Dark dots/bars indicate total ischemic time (TIT) less than 3 h, gray dots/bars indicate TIT of 3–6 h, and light gray dots/bars indicate TIT greater than 6 h. The impact of PIA is only significant for those with TIT between 3 and 6 h. TnT, troponin-T.

(OR = 0.557, 95% CI: 0.352–0.881,  $P = 0.012$ ).  $R^2$  was 0.32 and the Hosmer and Lemeshow  $\chi^2$  was 7.738 ( $P = 0.459$ ), indicating that the model fitted the data well. Moderate to severe dysfunction was present in 60 (30.5%) patients with PIA versus 138 (39.8%) patients with no-PIA

**Table 4** Univariate and multivariate analyses to predict moderate to severe left ventricular dysfunction

	Univariate [OR (95% CI)]	<i>P</i>	Multivariate[OR (95% CI)]	<i>P</i>
Age (years)	1.021 (1.007–1.034)	0.003	–	–
Creatinine clearance	0.992 (0.987–0.998)	0.006	–	–
Total ischemic time	1.001 (1.0–1.002)	0.006	1.001 (1.000–1.002)	0.004
Killip class 3–4	3.324 (1.997–6.217)	< 0.001	–	–
Preinfarction angina	0.663 (0.457–0.962)	0.03	0.557 (0.352–0.881)	0.012
SYNTAX score	1.079 (1.055–1.103)	< 0.001	1.039 (1.013–1.066)	0.001
ModAPP score	1.078 (1.058–1.097)	< 0.001	1.065 (1.042–1.088)	< 0.001
No-reflow	3.205 (1.492–6.883)	0.003	–	–
Thrombectomy	1.429 (0.956–2.126)	0.081	–	–
Gp2b/3a inhibitors	1.793 (1.228–2.620)	0.003	–	–
Peak TnT	1.153 (1.107–1.2)	< 0.001	1.086 (1.039–1.135)	< 0.001

CI, confidence interval; Gp, glycoprotein; ModAPP, modified APPROACH; OR, odds ratio; TnT, troponin-T.

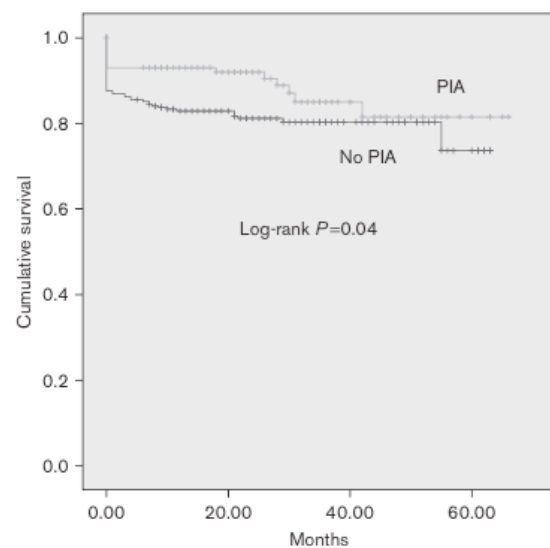
**Fig. 3**

Proportion of left ventricle dysfunction impairment versus angina status. Dark bars indicate moderate to severe dysfunction and gray bars indicate preserved to mild dysfunction. PIA patients had lower proportion of moderate to severe left ventricle dysfunction (30.5 vs. 39.8%,  $P=0.030$ ). PIA, preinfarction angina.

( $P=0.030$ ). Figure 3 shows left ventricle dysfunction across PIA versus no-PIA.

### Cumulative mortality

Only patients with at least a 12-month follow-up were considered for midterm mortality ( $n=451$ ). Seventy-five (16.6%) patients had died from admission to follow-up [median = 23 (IQR = 20) months] and four (0.9%) were missing; PIA was present in 143 (33.6%). Unadjusted mortality was lower (log-rank  $P=0.040$ ) for patients with PIA (Fig. 4). Of the variables shown in Table 1, male sex, age, thrombectomy, no-reflow, modAPP, SYNTAX, Killip class 3–4, smoking, PIA, CreatCl, ongoing insulin treatment, TIT, IABP insertion, peak TnT, and left ventricle dysfunction were related to cumulative death and were entered into the Cox model. In multivariate analyses, moderate to severe left ventricle dysfunction (HR = 3.126, 95% CI: 1.369–7.128,  $P=0.07$ ), Killip class 3–4 (HR = 2.397, 95% CI: 1.012–5.68,  $P=0.047$ ), and

**Fig. 4**

Kaplan–Meier curves for cumulative survival. The gray line indicates preinfarction angina (PIA) and the dark line indicates the absence of PIA.

peak TnT (HR = 1.05, 95% CI: 1.008–1.094,  $P=0.02$ ) were independent predictors for mortality, whereas thrombectomy (HR = 0.322, 95% CI: 0.152–0.684,  $P=0.03$ ) was inversely related to mortality hazard. PIA (HR = 0.784, 95% CI: 0.356–1.724,  $P=0.545$ ) was not independently related to cumulative mortality hazard. The *C*-statistic for GRACE and TIMI scores for cumulative mortality were 0.846 and 0.822, respectively.

### Discussion

The main findings of our study are as follows: (a) STEMI patients who underwent PPCI within 3–6 h from symptom onset had smaller infarcts if they had experienced PIA; (b) PIA was the only independent protector from moderate to severe left ventricle dysfunction; and

(c) after multivariate analyses, PIA failed to decrease mortality.

#### Cardioprotection and preinfarction angina

Cardioprotection by means of PreCon was first described by Murry *et al.* [8]. In an animal model, they observed that brief, nonlethal episodes of ischemia before a more sustained ischemic insult reduced infarct size depending on the duration of ischemia. In agreement with the pre-clinical evidence, in the fibrinolytic era, PIA reduced infarct size in some studies [32–35]. In the PPCI era, some retrospective analyses failed to show benefits of PIA for major adverse events [11] or infarct size [9], whereas others showed benefits in terms of lower infarct size, lower thrombus grade, and better left ventricle function [12].

PIA occurs as a natural PreCon stimulus as it resembles the nonlethal episode of ischemia that protects the heart from sustained ischemia. Accepted protective effects are preservation of vascular endothelial function, reduced accumulation and activation of polymorphonuclear neutrophils, reduced calcium overload, delay of the restoration of neutral pH, prevention of apoptosis, and reduction of microvascular obstruction and platelet reactivity [36–38]. Together, it seems that the mitochondrial transition pore, a key player in the reperfusion injury pathway, may also be the target where PreCon acts [39].

This endogenous protection paved the way toward extensive research to overcome the natural caveat of PreCon: it is a pre treatment not applicable to STEMI patients [3]. In attempts to replicate the protective effects of PreCon to patients with STEMI and to limit ischemia–reperfusion injury, concepts of postconditioning [40] or remote conditioning [41] have arisen. Unfortunately, some clinical trials have failed to show the advantages of postconditioning [42,43]. For remote conditioning, however, the clinical results have been intriguingly positive [44]. One question that might be worth asking is whether the patients enrolled in these trials had PIA, balancing the weight provided by postconditioning. Time to reperfusion must play a decisive role in cardioprotection. Differences in ischemic time on current postconditioning trials have been considered a plausible reason for some discordant findings [6].

#### Infarct size, total ischemic time, and preinfarction angina

Our study showed that patients with less than 3 and greater than 6 h from symptom onset did not have the same relative benefits of PIA as in patients who presented within 3–6 h. As we postulated in the beginning, the protection conferred by PIA may be limited by TIT, meaning that the protective effects of PreCon may be related to the duration of ischemia. This means that if patients arrive early, PIA does not confer cardioprotection beyond the benefit already conferred by timely reperfusion. In contrast, if the potential to myocardial salvage

is already too reduced, the relative impact of PIA is minimal. Interestingly, one large series showed the benefits of PIA for patients ranging from as large as 2 to 12 h from symptoms to reperfusion [13].

In multivariate analyses, higher values of CreatCl were related to lower peak TnT. This may be related to higher TnT activity in the face of renal insufficiency. Besides CreatCl, PIA was found to reduce infarct size after adjustment for possible confounders. Thrombectomy and Gp2b/3a utilization were positively related to the infarct size, possibly because of its greater use in the face of STEMI with larger thrombi.

#### Left ventricular ejection fraction

Among the variables related to moderate to severe dysfunction, only PIA was found to be a protector after adjusting for confounding variables. Previous studies with echocardiography had already shown the benefits of PIA in terms of increased myocardial viability, microvascular reflow [45,46], and better LVEF [13]. Duration of ischemia is a well-known factor for irreversible necrosis, and so it is logical that TIT relates to greater myocardial dysfunction. The SYNTAX score had a median of 17.5 (11–23.5). In a published series, this score was also correlated with mortality [47], correlating the severity of coronary disease to reduced LVEF. The modAPP score also independently predicted moderate to severe dysfunction, suggesting that the greater the AAR, the greater the impact on left ventricle function.

#### Mortality

Killip class 3–4, moderate to severe LVEF, and the magnitude of peak TnT are well-known markers for reduced survival [48,49]. Like in other series, GRACE and TIMI scores showed an excellent midterm discriminatory power for mortality. PIA has been related to lower 30-day mortality [13]. In our series, PIA was related to reduced mortality, but failed to maintain its effect in the multivariate analyses. Together with the trended value obtained in the in-hospital outcome, one may argue that the impact of PIA may become more significant in a larger sample. It may also be arguable that PIA confers protection from in-hospital mortality, but as many factors influence midterm outcome, its effect is lost at follow-up.

The impact of thrombectomy in the outcomes of STEMI is hotly debated. We interpret these results with caution. On one hand, we tend to use these devices when we face a large territory at risk and with a high thrombus burden; on the other, if we face small, calcified and tortuous vessels we tend not to use it. Thus, if in the former scenario we may relate thrombectomy to larger infarct size, in the latter we may encounter elderly patients with more severe and diffuse disease and thus with reduced chances of survival afterwards.



### Limitations

Some limitations should be addressed: (a) This is a retrospective analysis, on the basis of a clinical description of symptoms that substantiate PIA, which is always subjective, and patients were not counter-assessed by another individual. Still, it reflects everyday practice. (b) We used peak TnT as a measure of infarct size instead of imaging such as cMRI. Nevertheless, peak TnT has also been well correlated to imaging and clinical outcomes. It would have also been better if we had used cMRI to relate AAR with the final infarct size for PIA versus no-PIA patients. (c) LVEF at follow-up was not assessed for this analysis, disregarding the effects of remodeling. (d) We only selected patients who were alive on arrival to the hospital, not knowing the effects of PIA for those who did not get reperfusion.

### Conclusion

In STEMI patients with 3–6 h from symptom onset who were to undergo primary PCI, PIA conferred lesser infarct size. Moreover, PIA reduced the prevalence of moderate to severe left ventricle impairment, but failed to independently reduce mortality at midterm.

The PreCon stimulus provided by PIA can lead to an extension of the window of opportunity for myocardial salvage, thereby limiting infarct size in patients who present later, but not too late, to reperfusion.

### Acknowledgements

#### Conflicts of interest

There are no conflicts of interest.

### References

- 1 Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömostrom-Lundqvist C, Borger MA, *et al.* Task Force on the management of ST-segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012; **33**:2569–2619.
- 2 Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B. Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the 'dark side' of reperfusion. *Circulation* 2009; **120**:2105–2112.
- 3 Ovize M, Thibault H, Przyklenk K. Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation. *Circ Res* 2013; **113**:439–450.
- 4 Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007; **357**:1121–1135.
- 5 Gerczuk PZ, Kloner RA. An update on cardioprotection: a review of the latest adjunctive therapies to limit myocardial infarction size in clinical trials. *J Am Coll Cardiol* 2012; **59**:969–978.
- 6 Hausenloy DJ. Conditioning the heart to prevent myocardial reperfusion injury during PPCI. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 2012; **1**:13–32.
- 7 Kloner RA. Current state of clinical translation of cardioprotective agents for acute myocardial infarction. *Circ Res* 2013; **113**:451–463.
- 8 Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation* 1986; **74**:1124–1136.
- 9 De Luca G, Parodi G, Sciarra R, Bellandi B, Comito V, Vergara R, *et al.* Preinfarction angina does not affect infarct size in STEMI patients undergoing primary angioplasty. *Atherosclerosis* 2013; **226**:153–156.
- 10 Ottani F, Galli M, Zerboni S, Galvani M. Prodromal angina limits infarct size in the setting of acute anterior myocardial infarction treated with primary percutaneous intervention. *J Am Coll Cardiol* 2005; **45**:1545–1547.
- 11 Zahn R, Schiele R, Schneider S, Gitt AK, Seidl K, Bossaller C, *et al.* Effect of preinfarction angina pectoris on outcome in patients with acute myocardial infarction treated with primary angioplasty (results from the Myocardial Infarction Registry). *Am J Cardiol* 2001; **87**:1–6.
- 12 Ahmed TA, Sorgdrager BJ, Cannegieter SC, van der Laarse A, Schalij MJ, Jukema W. Pre-infarction angina predicts thrombus burden in patients admitted for ST-segment elevation myocardial infarction. *EuroIntervention* 2012; **7**:1396–1405.
- 13 Ishihara M, Inoue I, Kawagoe T, Shimatani Y, Kurisu S, Nishioka K, *et al.* Effect of prodromal angina pectoris on altering the relation between time to reperfusion and outcomes after a first anterior wall acute myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2003; **91**:128–132.
- 14 Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet* 1996; **348**:771–775.
- 15 Jennings RB. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 2013; **113**:428–438.
- 16 Francone M, Bucciarelli-Ducci C, Carbone I, Canali E, Scardala R, Calabrese FA, *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**:2145–2153.
- 17 Spencer FA, Montalescot G, Fox KA, Goodman SG, Granger CB, Goldberg RJ, *et al.* Delay to reperfusion in patients with acute myocardial infarction presenting to acute care hospitals: an international perspective. *Eur Heart J* 2010; **31**:1328–1336.
- 18 Heusch G. Nitroglycerin and delayed preconditioning in humans: yet another new mechanism for an old drug? *Circulation* 2001; **103**:2876–2878.
- 19 Leeser MA, Stoddard MF, Dawn B, Jasti VG, Masden R, Bolli R. Delayed preconditioning-mimetic action of nitroglycerin in patients undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 2001; **103**:2935–2941.
- 20 Bainey KR, Armstrong PW. Clinical perspectives on reperfusion injury in acute myocardial infarction. *Am Heart J* 2014; **167**:637–645.
- 21 Gersh BJ, Stone GW, White HD, Holmes DR Jr. Pharmacological facilitation of primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: is the slope of the curve the shape of the future? *JAMA* 2005; **293**:979–986.
- 22 Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, *et al.* Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012; **33**:2551–2567.
- 23 GRACE Investigators. Rationale and design of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) Project: a multinational registry of patients hospitalized with acute coronary syndromes. *Am Heart J* 2001; **141**:190–199.
- 24 Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, Cairns R, Murphy SA, de Lemos JA, *et al.* TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: a convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: an intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy. *Circulation* 2000; **102**:2031–2037.
- 25 Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, Morice MC, Colombo A, Dawkins K, *et al.* The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention* 2005; **1**:219–227.
- 26 Brandt PW, Partridge JB, Wattie WJ. Coronary arteriography; method of presentation of the arteriogram report and a scoring system. *Clin Radiol* 1977; **28**:361–365.
- 27 Kalbfleisch H, Hort W. Quantitative study on the size of coronary artery supplying areas postmortem. *Am Heart J* 1977; **94**:183–188.
- 28 Ortiz-Pérez JT, Meyers SN, Lee DC, Kansal P, Klocke FJ, Holly TA, *et al.* Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 2007; **28**:1750–1758.
- 29 Giannitsis E, Steen H, Kurz K, Ivandic B, Simon AC, Futterer S, *et al.* Cardiac magnetic resonance imaging study for quantification of infarct size comparing directly serial versus single time-point measurements of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol* 2008; **51**:307–314.
- 30 Klug G, Mayr A, Mair J, *et al.* Role of biomarkers in assessment of early infarct size after successful p-PCI for STEMI. *Clin Res Cardiol* 2011; **100**:501–510.
- 31 Vander Heide RS, Steenberg C. Cardioprotection and myocardial reperfusion: pitfalls to clinical application. *Circ Res* 2013; **113**:464–477.
- 32 Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, Davis VG, Junio L, Matthews RV, *et al.* Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation* 1995; **91**:37–45.
- 33 Andreotti F, Pasceri V, Hackett DR, Davies GJ, Haider AW, Maseri A. Preinfarction angina as a predictor of more rapid coronary thrombolysis in patients with acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1996; **334**:7–12.



- 34 Christenson RH, Leino EV, Giugliano RP, Bahr RD. Usefulness of prodromal unstable angina pectoris in predicting better survival and smaller infarct size in acute myocardial infarction (The InTIME-II Prodromal Symptoms Substudy). *Am J Cardiol* 2003; **92**:598–600.
- 35 Iglesias-Garriz I, Rodriguez MA, Garrote C, Corral F, Pascual C. Effect of preexisting angina pectoris on left ventricular function following acute myocardial infarction treated with thrombolysis or coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 2002; **90**:781–783.
- 36 Scalone G, Aurigemma C, Tomai F, Corvo P, Battipaglia I, Lanza GA, Crea F. Effect of pre-infarction angina on platelet reactivity in acute myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2013; **167**:51–56.
- 37 Jesel L, Morel O, Ohlmann P, Germain P, Faure A, Jahn C, et al. Role of pre-infarction angina and inflammatory status in the extent of microvascular obstruction detected by MRI in myocardial infarction patients treated by PCI. *Int J Cardiol* 2007; **121**:139–147.
- 38 Monassier JP. Reperfusion injury in acute myocardial infarction. From bench to cath lab. Part I: basic considerations. *Arch Cardiovasc Dis* 2008; **101**:491–500.
- 39 Murphy E, Steenbergen C. Did a classic preconditioning study provide a clue to the identity of the mitochondrial permeability transition pore? *Circ Res* 2013; **113**:852–855.
- 40 Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J. Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003; **285**:H579–H588.
- 41 Kharbanda RK, Mortensen UM, White PA, Kristiansen SB, Schmidt MR, Hoschtitzky JA, et al. Transient limb ischemia induces remote ischemic preconditioning in vivo. *Circulation* 2002; **106**:2881–2883.
- 42 Freixa X, Bellera N, Ortiz-Pérez JT, Jiménez M, Paré C, Bosch X, et al. Ischaemic postconditioning revisited: lack of effects on infarct size following primary percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* 2012; **33**:103–112.
- 43 Tarantini G, Favaretto E, Marra MP, Frigo AC, Napodano M, Cacciavillani L, et al. Postconditioning during coronary angioplasty in acute myocardial infarction: the POST-AMI trial. *Int J Cardiol* 2012; **162**:33–38.
- 44 Betker HE, Kharbanda R, Schmidt MR, Bettcher M, Kaltoft AK, Terkelsen CJ, 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**:727–734.
- 45 Colonna P, Cadeddu C, Montisci R, Ruscazio M, Selem AH, Chen L, et al. Reduced microvascular and myocardial damage in patients with acute myocardial infarction and preinfarction angina. *Am Heart J* 2002; **144**:796–803.
- 46 Iglesias-Garriz I, Corral F, Rodriguez MA, Garrote C, Montes M, Sevillano E. Pre-infarction angina elicits greater myocardial viability on reperfusion after myocardial infarction: a dobutamine stress echocardiographic study. *J Am Coll Cardiol* 2001; **37**:1846–1850.
- 47 Garg S, Sarno G, Serruys PW, et al. Prediction of 1-year clinical outcomes using the SYNTAX score in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: a substudy of the STRATEGY (Single High-Dose Bolus Tirofiban and Sirolimus-Eluting Stent Versus Abciximab and Bare-Metal Stent in Acute Myocardial Infarction) and MULTISTRATEGY (Multicenter Evaluation of Single High-Dose Bolus Tirofiban Versus Abciximab With Sirolimus-Eluting Stent or Bare-Metal Stent in Acute Myocardial Infarction Study) trials. *JACC Cardiovasc Interv* 2011; **4**:66–75.
- 48 Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol* 2006; **97** (10A):13F–25F.
- 49 Park HW, Yoon CH, Kang SH, Choi DJ, Kim HS, Cho MC, et al. Early- and late-term clinical outcome and their predictors in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol* 2013; **169**:254–261.

**2. Thrombus aspiration for reperfusion in myocardial infarction: Predictors and clinical impact of ineffectiveness.**

Luz A, Rodrigues P, Sousa MJ, Silveira I, Anjo D, Brochado B, Santos M, Silveira J, Cyrne Carvalho H, Torres S. *Rev Port Cardiol.* 2014 Dec;33(12):753-60.



## ARTIGO ORIGINAL

## A trombectomia aspirativa na reperfusão do enfarte agudo de miocárdio: preditores e impacto clínico da sua ineficácia



André Luz\*, Patrícia Rodrigues, Maria João Sousa, Inês Silveira, Diana Anjo, Bruno Brochado, Mário Santos, João Silveira, Henrique Cyrne Carvalho, Severo Torres

Serviço de Cardiologia, Centro Hospitalar do Porto, E.P.E., Porto, Portugal

Recebido a 21 de fevereiro de 2014; aceite a 4 de maio de 2014  
 Disponível na Internet a 4 de dezembro de 2014

## PALAVRAS-CHAVE

Trombectomia;  
 Enfarte agudo de miocárdio;  
 Reperfusão;  
 Aspiração de trombo

## Resumo

**Introdução e objetivos:** O benefício da trombectomia aspirativa manual (TbA) na reperfusão do enfarte de miocárdio com elevação de ST (EAMST) tem sido muito debatida. Na maioria das séries, a ineficácia da TbA tem sido pouco evidenciada. Os nossos objetivos visaram conhecer a taxa, os preditores e o impacto na mortalidade cumulativa da TbA ineficaz (TbANE) numa série de doentes submetidos a intervenção coronária percutânea primária (ICPP).

**Métodos:** Estudo retrospectivo, unicêntrico, consecutivo, de doentes com EAMST submetidos a ICPP com TbA. Considerou-se TbANE se após a TbA e antes de prosseguir a angioplastia se se obtivesse fluxo coronário TIMI < 2. Identificaram-se preditores independentes de TbANE por regressão logística multivariada. Os preditores de mortalidade cumulativa foram identificados por modelo de Cox.

**Resultados:** Dentre 574 doentes, utilizou-se a TbA em 417 (72,6%), que foi eficaz em 365 (87,5%), ineficaz em 52 (12,5%). Na análise multivariada, o *score* SYNTAX (OR = 1,049, 95% CI: 1,015-1,084, p = 0,005) e o tempo isquémico total (OR = 1,001, 95% CI: 1,000-1,003, p = 0,02) foram os preditores independentes de TbANE. A disfunção ventricular esquerda moderada/severa (HR = 6,256, 95% CI: 1,896-20,644, p = 0,003), o *score* APPROACH (HR = 1,094, 95% CI: 1,016-1,177, p = 0,017), a classe 3-4 de Killip (HR = 2,953, 95% CI: 1,122-7,770, p = 0,028) e a *clearance* da creatinina na admissão (HR = 0,973, 95% CI: 0,953-0,994, p = 0,011), relacionaram-se de forma independente com a mortalidade cumulativa (24 ± 0,82 meses).

**Conclusões:** O tempo de sintomas e o *score* SYNTAX foram preditores independentes de TbANE. Contudo, a TbANE não teve impacto independente com a mortalidade cumulativa a médio prazo. © 2014 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos os direitos reservados.

\* Autor para correspondência.

Correio eletrónico: [andrecoimbraluz@hotmail.com](mailto:andrecoimbraluz@hotmail.com) (A. Luz).

**KEYWORDS**

Thrombus aspiration;  
ST-elevation  
myocardial  
infarction;  
Reperfusion;  
Thrombectomy

**Thrombus aspiration for reperfusion in myocardial infarction: Predictors and clinical impact of ineffectiveness****Abstract**

**Introduction and Objectives:** The benefit of manual thrombus aspiration (TA) in the reperfusion of patients with ST-elevation myocardial infarction (STEMI) has been hotly debated. In most series, failure of TA has been largely unreported. Our objectives were to assess the rate, predictors, and impact on cumulative mortality of failed TA during primary percutaneous coronary intervention (PPCI).

**Methods:** This was a single-center, retrospective study of consecutive STEMI patients undergoing PPCI with TA. TA was considered ineffective if, before angioplasty, coronary flow was TIMI <2. Independent predictors of TA failure were assessed by logistic regression, and predictors of cumulative mortality were assessed by Cox regression analysis.

**Results:** Of 574 patients, TA was used in 417 (72.6%), and was effective in 365 (87.5%) and ineffective in 52 (12.5%). On multivariate analysis, SYNTAX score (OR=1.049, 95% CI: 1.015–1.084, p=0.005) and total ischemic time (OR=1.001, 95% CI: 1.000–1.003, p=0.02) were independent predictors of TA failure. Moderate or severe left ventricular dysfunction (HR=6.256, 95% CI: 1.896–20.644, p=0.003), APPROACH score (HR=1.094, 95% CI: 1.016–1.177, p=0.017), Killip class III/IV (HR=2.953, 95% CI: 1.122–7.770, p=0.028) and creatinine clearance on admission (HR=0.973, 95% CI: 0.953–0.994, p=0.011) were independently related to cumulative mortality at 24±0.82 months.

**Conclusions:** Total ischemic time and SYNTAX score were independent predictors of TA failure. However, in medium-term follow-up, ineffective manual TA was not independently related to cumulative mortality.

© 2014 Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

**Abreviaturas e acrónimos**

TbA	Trombectomia aspirativa
EAMST	Enfarte agudo de miocárdio com elevação de ST
ICPP	Intervenção coronária percutânea primária
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction
TbAE	Trombectomia aspirativa eficaz
TbANE	Trombectomia aspirativa não eficaz
RMC	Ressonância Magnética Cardíaca
ClCreat	Clearance da creatinina
GRACE	Global Registry of Acute Coronary Events
SYNTAX	Synergy between PCI with TAXUS drug-eluting stent and Cardiac Surgery
APPROACH	Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Disease
TIT	Tempo isquémico total
FEVE	Fracção de ejeção do ventrículo esquerdo

**Introdução e objetivos**

O benefício da trombectomia aspirativa (TbA) manual como técnica adjuvante na reperfusão de doentes com enfarte agudo de miocárdio com elevação de ST (EAMST) tem sido alvo de intenso debate. A vantagem da TbA durante a intervenção coronária percutânea primária (ICPP) reside na aspiração do trombo coronário por forma a reduzir

a embolização distal de material trombótico durante a angioplastia. Com isto pretende-se melhorar a microperfução coronária e, conseqüentemente, reduzir a área total de enfarte<sup>1-6</sup>. Comparativamente aos dispositivos de aspiração mecânica, a TbA manual é mais simples de utilizar e de igual ou superior eficácia<sup>7-9</sup>.

A introdução da TbA manual revestiu-se de grande entusiasmo e popularidade na área da cardiologia de intervenção, tendo-lhe sido atribuída classe IIa/B nas recomendações europeias para o tratamento do EAMST<sup>10</sup>. Contudo, assiste-se a grande variabilidade na utilização desta técnica como adjuvante na reperfusão<sup>11</sup>. Num registo recente, a TbA manual não atingiu 20% das ICPP nos Estados Unidos da América (EUA)<sup>12</sup>. Apesar de alguns estudos aleatorizados demonstrarem benefícios clínicos ao reduzir eventos cardiovasculares *major*<sup>13-15</sup>, que foram posteriormente reafirmados em meta-análises<sup>8,16-18</sup>, algumas séries (onde se inclui uma de grande dimensão) não têm confirmada a mesma eficácia clínica<sup>19-22</sup>. No entanto, nalguns casos, a TbA pode ser difícil de utilizar (10% dos doentes alocados para TbA no estudo TAPAS<sup>13</sup>). Assim, o efeito que a ineficácia da aspiração do trombo possa ter em doentes onde a TbA fora considerada, *a priori*, necessária, tem sido pouco explorado.

O objetivo principal deste trabalho foi conhecer os preditores da ineficácia da TbA durante a ICPP numa série consecutiva de doentes com EAM orientados para ICPP, onde a TbA tenha sido sistematicamente utilizada e como primeira intenção (excluem-se situações de *bail out*). Como objetivo secundário, conhecer os preditores de mortalidade



cumulativa (cardíaca e não cardíaca) no médio prazo pós-EAMST.

## Métodos

### População estudada e definições

Série retrospectiva de um centro, consecutiva, de doentes com EAMST admitidos para ICPP entre janeiro de 2008 e dezembro de 2013. Excluíram-se doentes com *bypass* aorto-coronário. As variáveis clínicas, laboratoriais e relacionadas com o procedimento desde a admissão até à alta hospitalar foram compiladas através da consulta da base eletrónica de dados hospitalar. O estado vital do doente em seguimento foi avaliado pela consulta do processo clínico eletrónico, através do contacto com o médico assistente, do doente ou familiares. O diagnóstico de EAMST baseou-se em critérios clínicos, suportados pelas seguintes alterações no eletrocardiograma: elevação de segmento ST  $\geq 0,15$  mV em V2-V3 ou  $\geq 0,1$  mV nas outras em pelo menos duas das outras derivações, depressão de ST em V2-V3  $\geq 0,15$  mm com onda T positiva (enfarte posterior) ou bloqueio completo de ramo esquerdo *de novo*. Para este estudo, foram apenas considerados os doentes com artéria coronária epicárdica com imagem de trombo e fluxo *Thrombolysis in Myocardial Infarction* (TIMI) 0 ou 1, onde foi utilizada a TbA manual.

O fenómeno de *no-reflow* foi considerado se após a angioplastia não se obtivesse fluxo coronário distal TIMI  $\geq 2$  ou fluxo TIMI 2-3, mas com impossibilidade de o contraste perfundir território capilar miocárdico (grau de perfusão miocárdica = 0), ou se após a perfusão houvesse estagnação de contraste (grau de perfusão miocárdica = 1), na ausência de espasmo, dissecação, ou de trombo coronário epicárdico, que persistissem após administração intracoronária de nitroglicerina e adenosina. Depois da utilização do dispositivo de aspiração manual e antes de prosseguir com a angioplastia (balão e/ou *stent*), a TbA foi considerada ineficaz (TbANE) se se obtivesse fluxo coronário TIMI < 2 e eficaz (TbAE) se fluxo TIMI 2-3.

O tempo isquémico total (TIT) foi o tempo decorrido desde o início das queixas do doente (altura em que as queixas se tornaram intensas e persistentes) até à passagem do fio guia durante a ICPP. A *clearance* da creatinina (ClCreat) foi calculada através da fórmula de *Cockcroft-Gault*.

A estratificação do risco através dos *scores* Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE)<sup>23</sup> (pontuação para mortalidade hospitalar/seis meses) e TIMI (para EAMST)<sup>24</sup> foi determinada para todos os doentes. A classificação anatómica através do *score Synergy between PCI with TAXUS drug-eluting stent and cardiac surgery (SYNTAX)*<sup>25</sup> v 2.11 foi realizada com ajuda do sítio web, considerando-se todas as lesões com estenoses > 50% em vasos de calibre > 1,5 mm. A oclusão da artéria responsável pelo enfarte foi classificada como oclusão com menos de três meses. A área miocárdica em risco foi calculada através do *score Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Disease (APPROACH) modificado*<sup>26</sup>. Resumidamente, este *score* angiográfico permite estimar a percentagem de miocárdio que é nutrida por um segmento coronário, tendo em atenção a dominância e o calibre dos vasos que dele provêm. É uma classificação simples de implementar e com boa correlação

com a área em risco avaliada por ressonância magnética cardíaca (RMC)<sup>27,28</sup>. Tomando como exemplo a artéria descendente anterior proximal, a área em risco estimada é de 47,75% na presença de importante vaso diagonal a jusante da oclusão e de 41,25% se a diagonal for pequena ou inexistente. Toda a análise angiográfica foi realizada por dois cardiologistas seniores de intervenção. Em caso de dúvida, os *scores* foram atribuídos por consenso ou pela média das observações individuais.

A fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE) foi calculada por ecocardiografia 2-D (Phillips iE33, Eindhoven, Holanda) pelo método de Simpson. A FEVE foi considerada como preservada se valores  $\geq 55\%$ , depressão ligeira entre valores  $\geq 45\%$  e < 55%, depressão moderada entre  $\geq 30\%$  e < 45%, depressão severa se < 30%. Para efeitos de análise estatística, dicotomizou-se a FEVE em dois grupos: FEVE preservada/disfunção ligeira e disfunção moderada/severa.

Consideramos a mortalidade cumulativa global (cardíaca e não cardíaca, hospitalar e no seguimento) como evento cardiovascular *major*. Nesta análise, apenas foram considerados doentes com tempo mínimo de seguimento superior ou igual a 12 meses após o EAMST.

### Procedimento e medicação

Todos os doentes foram medicados com aspirina 300 mg e clopidogrel 600 mg antes da ICPP, a não ser que já se encontrassem sob essa medicação. O calibre do introdutor arterial foi seis ou sete French. Durante o procedimento, foi administrada heparina não fracionada (70 UI/kg). A utilização de inibidores da glicoproteína 2b/3a, tipo de *stent*, e outros dispositivos adjuvantes na angioplastia foram deixados ao critério do operador. A TbA manual foi exclusivamente efetuada pelo cateter de aspiração de trombos Export 6F (Medtronic, Minneapolis, MN, EUA). Após a ICPP, os doentes foram admitidos em unidades de cuidados coronários. Procedeu-se à colheita de marcadores de necrose miocárdica (troponina T [TnT], creatina quinase (CK) e CK-massa) às seis, 12, 24 e 48 h após reperfusão. No momento da alta hospitalar, aspirina 100 mg/dia e clopidogrel 75 mg/dia foram prescritos a todos os doentes, além da medicação considerada apropriada segundo as recomendações.

### Análise estatística

Utilizou-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para testar a distribuição da normalidade das variáveis contínuas, que foram expressas em média  $\pm$  desvio padrão (SD) ou intervalo interquartil (IQR), respetivamente, para variáveis de distribuição normal ou não normal. Variáveis contínuas de distribuição normal foram comparadas pelo teste t-Student para amostras independentes, variáveis contínuas de distribuição não normal foram comparadas pelo teste Mann-Whitney. As variáveis categóricas foram expressas em número e percentagens e comparadas pelo teste do qui-quadrado ou pelo teste exato de Fisher. Os picos de TnT, de CK e CK-massa foram transformados em logaritmo para permitir testes paramétricos. Para identificar preditores de TbANE utilizou-se um modelo de regressão logística com a TbANE como variável dependente. As variáveis com  $p < 0,1$

na análise univariada, foram incluídas na análise multivariada a fim de identificar os preditores independentes. A mortalidade não ajustada associada à eficácia da TbA foi calculada através do método de Kaplan-Meier, sendo a diferença obtida através do teste Log-Rank. A mortalidade cumulativa ajustada para variáveis confundidoras foi avaliada por um modelo de Cox. Variáveis com valor de  $p < 0,1$  na análise univariada foram incluídas na análise multivariada. Para evitar sobreajustamento, os scores GRACE e TIMI não foram incluídos nas regressões. Todos os testes foram considerados significativos se valor de  $p < 0,05$  para duas caudas. A análise estatística foi efetuada em SPSS v.20 (SPSS, Chicago, IL, EUA).

## Resultados

Dentre 614 doentes com EAMST, excluíram-se 40 por informação insuficiente. Dos 574 doentes estudados, a TbA foi utilizada em 417 doentes (72,6%), considerando-se eficaz em 365 (87,5%) e ineficaz em 52 (12,5%). No grupo TbANE, em quatro casos (4/52 = 7,7%) a TbA foi ineficaz por impossibilidade de ultrapassar a lesão. O operador procedeu à dilatação da lesão com balão e apenas num caso a

TbA foi novamente utilizada, igualmente sem sucesso. As Tabelas 1 e 2 resumem as características clínicas e as relacionadas com o procedimento, consoante a eficácia da TbA. Em geral, a TbANE esteve significativamente associada a não fumadores, scores GRACE, SYNTAX e classe Killip na admissão mais elevados, e TIT mais longo. Relativamente ao procedimento, encontraram-se diferenças da artéria responsável pelo enfarte (a circunflexa menos prevalente no grupo TbANE) e colocação mais frequente de balão intra-aórtico (BIA) no grupo TbANE. Encontrou-se uma tendência para maior taxa de pré-medicação com nitratos e bloqueadores da entrada do cálcio no grupo TbANE, e menor concentração de hemoglobina na admissão. Relativamente aos resultados na fase hospitalar (Tabela 3), a taxa de fenómeno de *no-reflow* foi mais elevada no grupo TbANE. Não se encontraram diferenças significativas nos picos enzimáticos nem nas diferenças de FEVE antes da alta hospitalar, ressalvando-se que em 21 (3,7%) doentes não foi possível obter pico enzimático nas primeiras 24 h, em que a principal causa foi o falecimento precoce após o procedimento ( $n = 19$  [90,5%]). Nos 21 doentes, utilizou-se a TbA em 12 (57,1%), que foi eficaz em 7 (58,3%) e ineficaz em 5 (41,7%). A duração do internamento no grupo TbANE foi mais longa. A taxa de mortalidade foi nominalmente mais elevada (13,5

**Tabela 1** Variáveis demográficas e scores de risco

Características	TbAE	TbANE	Valor de p
<i>Demografia e fatores de risco</i>			
Idade (anos) $\pm$ SD	61,69 $\pm$ 13,18	64,65 $\pm$ 12,77	0,129
Masculino (%)	274 (75,1)	39 (75,0)	0,991
Feminino (%)	91 (24,9)	13 (25,0)	0,991
Diabetes (%)	86 (23,6)	16 (31,4)	0,229
Hipercolesterolemia (%)	204 (56,0)	25 (49,0)	0,345
Hipertensão (%)	210 (57,7)	26 (52,0)	0,446
Fumador (%)	211 (58,0)	20 (40)	0,016
Índice de massa corporal, kg/m <sup>2</sup> $\pm$ SD	26,48 $\pm$ 3,63	26,69 $\pm$ 3,62	0,692
Antecedentes de enfarte (%)	22 (6,1)	3 (5,9)	1,000
Angina pré-enfarte	129 (35,6)	18 (35,3)	0,962
Clearance creatinina (ml/min) $\pm$ SD	88,44 $\pm$ 35,25	82,43 $\pm$ 40,52	0,264
Hemoglobina (mg/dl) (IQR)	14,4 (2,4)	13,9 (2,9)	0,083
<i>Medicação em curso</i>			
Bloqueador beta (%)	44 (12,2)	5 (10,0)	0,659
Estatina (%)	79 (21,8)	9 (18)	0,542
IECAv (%)	61 (16,9)	6 (12,0)	0,384
ARAI (%)	63 (17,4)	9 (18,0)	0,917
Antagonistas do cálcio (%)	26 (7,2)	8 (16,0)	0,050
Aspirina (%)	45 (12,4)	7 (14,0)	0,754
Clopidogrel (%)	14 (3,9)	1 (2,0)	0,707
Insulina (%)	14 (3,9)	2 (4,0)	1,000
Antidiabéticos orais (%)	56 (15,5)	8 (16,0)	0,929
Nitratos (%)	15 (4,2)	5 (10,0)	0,082
Anticoagulantes orais (%)	37 (10,1)	5 (9,6)	0,631
<i>Scores de risco</i>			
GRACE (IQR)	213,0 (45,0)	221,0 (54,0)	0,022
TIMI (IQR)	3,0 (3,0)	4,0 (4,0)	0,090
Killip 3-4 (%)	40 (11,0)	11 (21,6)	0,031

ARA: antagonista dos recetores da angiotensina II; IECA: inibidor da enzima convertora da angiotensina; TbAE: tromboectomia aspirativa eficaz; TbANE: tromboectomia aspirativa não eficaz.

**Tabela 2** Variáveis relacionadas com o procedimento

Características	TbAE	TbANE	Valor de p
<i>Tempos até reperfusão (minutos)</i>			
Tempo isquêmico total (IQR)	210,0 (248,0)	332,5 (393,0)	0,002
Porta-balão (IQR)	70,0 (70,0)	90,0 (75,0)	0,095
<i>Pressão arterial sistólica (mmHg) ± SD</i>	120 ± 25,81	115 ± 30,74	0,209
<i>Vaso alvo</i>			
DA (%)	156 (42,7)	25 (48,1)	0,006
CX (%)	44 (12,1)	3 (5,8)	
CD (%)	165 (45,2)	22 (42,3)	
Tronco comum (%)	0 (0,0)	2 (3,8)	
<i>Acesso radial (%)</i>	182 (50,0)	28 (56,0)	0,426
<i>Inib. 2b/3a (%)</i>	122 (33,5)	19 (38,0)	0,530
<i>Colocação de BIA (%)</i>	7 (1,9)	6 (11,8)	0,002
<i>Tipo de stent</i>			
<i>Drug-eluting stent (%)</i>	202 (55,3)	25 (48,1)	0,026
<i>Bare-metal stent (%)</i>	151 (41,4)	21 (40,4)	
<i>Balão (apenas) (%)</i>	12 (3,3)	6 (11,5)	
<i>Scores angiográficos</i>			
SYNTAX (IQR)	17,5 (10,25)	21 (14,0)	< 0,001
APPROACH modificado (IQR)	27,5 (11,5)	27,5 (15,45)	0,963
<i>ICP noutros vasos (%)*</i>	73 (20,0)	7 (14,0)	0,313

BIA: balão intra-aórtico; CD: artéria coronária direita; CX: artéria circunflexa; DA: artéria descendente anterior; ICP: intervenção coronária percutânea; Inib: inibidores da glicoproteína 2b/3a.

\* Refere-se a intervenção coronária percutânea de outros vasos que não o responsável pelo enfarte, na mesma estadia hospitalar.

versus 6%,  $p = 0,073$ ) no grupo TbANE, mas sem atingir significado estatístico.

Na análise univariada, a idade, o score SYNTAX, o tabagismo ativo, a concentração de hemoglobina na admissão, a

medicação prévia com nitratos ou bloqueadores da entrada de cálcio, o TIT e a classe 3 ou 4 de Killip na admissão correlacionaram-se com a TbANE. Na análise multivariada, apenas o score SYNTAX (OR = 1,049, 95% CI: 1,015-1,084,

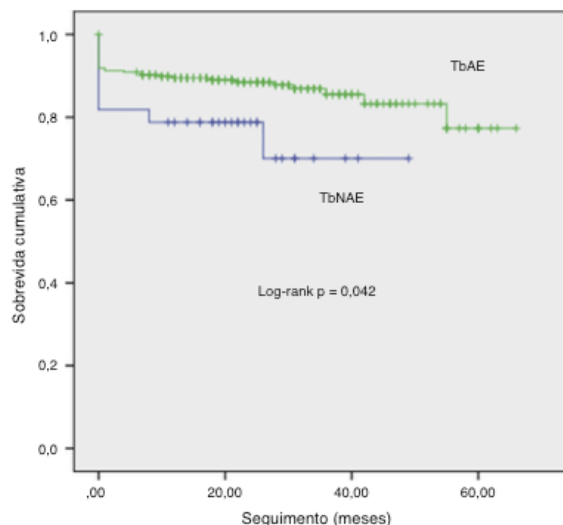
**Tabela 3** Resultados hospitalares

Características	TbAE	TbANE	Valor p
<i>Pico de CK (U/L) (IQR)</i>	2.160,0 (2622,0)	2.143,0 (3.138,0)	0,633*
<i>Pico de CK-massa (U/L) (IQR)</i>	218,5 (201,0)	200,0 (219,7)	0,091*
<i>Pico de TnT (IQR)</i>	5,12 (6,1)	4,64 (5,82)	0,500*
<i>No-reflow (%)</i>	5 (1,4)	18 (35,3)	< 0,001
<i>FEVE (n = 395)</i>			
Preservada/disfunção ligeira (%)	217 (62,5)	25 (52,1)	0,164
Disfunção moderada/severa (%)	130 (37,5)	23 (47,5)	
<i>Killip 3-4 (durante hospitalização) (%)</i>	40 (11,0)	11 (21,6)	0,031
<i>Mortalidade hospitalar (%)</i>	22 (6,0)	7 (13,5)	0,073
<i>Dias internamento (mediana) (IQR)</i>	6,0 (3,0)	7 (7,0)	0,005
<i>Medicação à data de alta (n = 388)</i>			
Bloqueador beta (%)	322 (93,8)	40 (88,9)	0,222
IECA/ARA II (%)	255 (74,3)	35 (77,8)	0,590
Estatina (%)	336 (97,9)	42 (93,3)	0,121
Aspirina (%)	343 (100)	45 (100)	1,000
Clopidogrel (%)	343 (100)	45 (100)	1,000

ARA: antagonista dos recetores da angiotensina; CK: creatina kinase; CK-mass: fração massa da CK; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; IECA: inibidor da enzima conversora da angiotensina; TbAE: trombectomia aspirativa eficaz; TbANE: trombectomia aspirativa não eficaz; TnT: troponina T.

\* Valor de p calculado por teste-t para amostras independentes após transformação logarítmica das variáveis CK, CK-massa e TnT.





**Figura 1** Curva de mortalidade cumulativa em função da eficácia da trombectomia aspirativa.

TbAE: trombectomia aspirativa eficaz.

TbANE: trombectomia aspirativa não eficaz.

$p=0,005$ ) e o TIT (OR = 1,001, 95% CI: 1,000-1,003,  $p=0,02$ ) se mantiveram como preditores independentes.

Identificamos 331 doentes com pelo menos 12 meses de seguimento desde o EAMST. Em dois (0,6%) doentes não foi possível obter o estado vital. Foi então possível estudar 329 doentes incluídos na análise de mortalidade a médio prazo (média =  $24 \pm 0,82$  meses, taxa de mortalidade cumulativa = 13,9%). A mortalidade cumulativa não ajustada foi mais elevada nos doentes onde a trombectomia foi não eficaz (Figura 1). Após ajustamento para covariáveis com  $p < 0,1$  na análise univariada (género, idade, eficácia da trombectomia, scores APPROACH e SYNTAX, fumo ativo, TIT, ClCreat, vaso alvo, colocação de BIA, hemoglobínia, tensão arterial sistólica e classe Killip 3-4 na admissão e FEVE no momento da alta), a FEVE com disfunção moderada/severa (HR = 6,256, 95% CI: 1,896-20,644,  $p=0,003$ ), o score APPROACH (HR = 1,094, 95% CI: 1,016-1,177,  $p=0,017$ ), e a classe 3-4 de Killip (HR = 2,953, 95% CI: 1,122-7,770,  $p=0,028$ ) correlacionaram-se de forma positiva com a mortalidade, enquanto valores crescentes da ClCreat tiveram efeito protetor (HR = 0,973, 95% CI: 0,953-0,994,  $p=0,011$ ).

## Discussão

Nesta série, a TbA foi utilizada como primeira intenção na maioria (72,6%) dos doentes, tendo sido eficaz na grande maioria dos casos (87,5%). Parece-nos razoável que quanto mais organizado se encontrar o trombo, menor será a eficácia da TbA, não surpreendendo que quanto maior for o atraso desde o início dos sintomas até à reperfusão, menor será a eficácia da TbA. Neste particular, a relação entre o TIT e a organização do trombo como preditores de eventos adversos fora já anteriormente descrita<sup>29-32</sup>. Desconhecíamos, contudo, a relação entre o score SYNTAX e a TbANE.

Supõe-se que em condições anatómicas mais desfavoráveis a técnica de aspiração fique comprometida, por exemplo, devido a tortuosidades ou calcificação, ou mesmo devido à maior quantidade de placa com risco de embolização distal e consequente microperfusão inadequada. Nalgumas séries de doentes submetidos a ICPP já se demonstrou a relação entre o score SYNTAX e o risco de *no-reflow*<sup>33</sup>.

Tendo excluído da análise os doentes em que a TbA não fora utilizada, porventura em vasos de menor calibre ou com menor quantidade de trombo em que se previa menor vantagem da TbA, a utilização desta técnica de forma sistemática perspetivaria menor área de enfarte se fosse eficaz. Esse pressuposto não se confirmou nesta série de doentes. Sendo certo que o pico enzimático pode apenas estimar a extensão do enfarte, sabe-se que a correlação entre os picos enzimáticos e a área de enfarte avaliada por RMC tem sido muito razoável<sup>34,35</sup>. Nalgumas séries onde a RMC foi utilizada para avaliar a área de necrose, os doentes submetidos a TbA não tiveram menor extensão do enfarte<sup>22,36</sup>, mesmo nos casos onde se demonstrou ser menor a obstrução microvascular<sup>20</sup>.

Em termos de mortalidade, não seria de esperar grande diferença face à dimensão reduzida da amostra para avaliar *endpoints* clínicos. Contudo, a tendência verificada na mortalidade hospitalar poderá tornar-se mais evidente em séries de dimensão mais robusta. No subgrupo avaliado para a mortalidade cumulativa, e sem surpresa, a FEVE moderada/severa e a classe Killip 3-4 foram fortes preditores independentes para a mortalidade a médio prazo. Estas duas características<sup>37-39</sup>, a par da área miocárdica em risco<sup>40</sup>, têm sido referenciadas como marcadores de prognóstico adverso. Facto interessante é que o impacto da TbA pode ser significativo apenas em doentes com maior área em risco<sup>41</sup>, mas faltam estudos prospetivos dirigidos para confirmar esta hipótese. A insuficiência renal tem sido várias vezes apontada como causa independente de mortalidade no doente com EAMST<sup>42,43</sup>. É pois de esperar que valores mais elevados de ClCreat se associem a efeito protetor.

A discussão em torno da TbA na reperfusão está longe de chegar a consenso<sup>44</sup>. A divergência encontrada nas publicações até à data poderá dever-se a séries de dimensão modesta para avaliação de *endpoints* clínicos e a metodologias distintas para avaliar a microperfusão coronária. Por outro lado, parece que nem todos os doentes beneficiam da mesma forma da TbA, o que espelha bem a heterogeneidade dos doentes com EAMST. Relativamente aos *endpoints* clínicos mais importantes, apenas em séries de grande dimensão ou em meta-análises se poderão encontrar respostas sólidas, pelo que os nossos resultados referentes à mortalidade devem ser interpretados com cautela. É sabido que doentes com fenómeno de *no-reflow* têm taxas acrescidas de mortalidade a longo prazo<sup>45</sup>. A relação significativa encontrada entre o *no-reflow* e a TbANE poderá traduzir-se em mortalidade cumulativa acrescida em séries de maior dimensão, que permitam estudar esta relação com maior detalhe. Na globalidade, os resultados deste estudo observacional aproximam-se das últimas séries em que a TbA é comparada com a ICPP convencional. Com exceção da menor taxa de *no-reflow*, a TbAE não se traduziu num benefício inequívoco face à TbANE.



## Limitações

Algumas limitações devem ser consideradas: trata-se de estudo unicêntrico e retrospectivo, com número modesto de doentes para avaliar impacto na mortalidade a médio prazo. A taxa de ineficácia da TbA foi muito baixa (< 15%), o que pode ter implicações nos resultados.

## Conclusões

Na nossa série, a TbANE em 12,5% dos casos, em que o tempo de sintomas até à reperfusão e o *score* SYNTAX foram os preditores independentes. Na análise multivariada, a ineficácia da TbA não se relacionou com maior área de enfarte ou com aumento de mortalidade a médio prazo.

## Responsabilidades éticas

**Proteção de pessoas e animais.** Os autores declaram que para esta investigação não se realizaram experiências em seres humanos e/ou animais.

**Confidencialidade dos dados.** Os autores declaram ter seguido os protocolos do seu centro de trabalho acerca da publicação dos dados de pacientes.

**Direito à privacidade e consentimento escrito.** Os autores declaram que não aparecem dados de pacientes neste artigo.

## Conflito de interesses

Os autores declaram não haver conflito de interesses.

## Bibliografia

1. Heusch G, Kleinbongard P, Bose D, et al. Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside. *Circulation*. 2009;120:1822–36.
2. Srinivasan M, Rihal C, Holmes DR, et al. Adjunctive thrombectomy and distal protection in primary percutaneous coronary intervention: impact on microvascular perfusion and outcomes. *Circulation*. 2009;119:1311–9.
3. Chopard R, Plastaras P, Jehl J, et al. Effect of macroscopic-positive thrombus retrieval during primary percutaneous coronary intervention with thrombus aspiration on myocardial infarct size and microvascular obstruction. *Am J Cardiol*. 2013;111:159–65.
4. Sardella G, Mancone M, Nguyen BL, et al. The effect of thrombectomy on myocardial blush in primary angioplasty: the Randomized Evaluation of Thrombus Aspiration by two thrombectomy devices in acute Myocardial Infarction (RETAMI) trial. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2008;71:84–91.
5. Sardella G, Mancone M, Bucciarelli-Ducci C, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention improves myocardial reperfusion and reduces infarct size: the EXPIRA (thrombectomy with export catheter in infarct-related artery during primary percutaneous coronary intervention) prospective, randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53:309–15.
6. Woo SI, Park SD, Kim DH, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention for preserving the index of microcirculatory resistance: a randomised study. *EuroIntervention*. 2014;9(9):1057–62.
7. Vink MA, Patterson MS, van Etten J, et al. A randomized comparison of manual versus mechanical thrombus removal in primary percutaneous coronary intervention in the treatment of ST-segment elevation myocardial infarction (TREAT-MI). *Catheter Cardiovasc Interv*. 2011;78:14–9.
8. Kumbhani DJ, Bavry AA, Desai MY, et al. Role of aspiration and mechanical thrombectomy in patients with acute myocardial infarction undergoing primary angioplasty: an updated meta-analysis of randomized trials. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:1409–18.
9. Tamhane UU, Chetcuti S, Hameed I, et al. Safety and efficacy of thrombectomy in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for acute ST elevation MI: a meta-analysis of randomized controlled trials. *BMC Cardiovasc Disord*. 2010;10:10.
10. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2012;33:2569–619.
11. Russo JJ, Dzavik V, Cairns JA, et al. An international survey of clinical practice during primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction with a focus on aspiration thrombectomy. *EuroIntervention*. 2013;8:1143–8.
12. Chiang A, Gada H, Kodali SK, et al. Procedural variation in the performance of primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: A SCAI-based survey study of US interventional cardiologists. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013, n/a-n/a.
13. Svilaas T, Vlaar PJ, van der Horst IC, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med*. 2008;358:557–67.
14. Vlaar PJ, Svilaas T, van der Horst IC, et al. Cardiac death and reinfarction after 1 year in the Thrombus Aspiration during Percutaneous coronary intervention in Acute myocardial infarction Study (TAPAS): a 1-year follow-up study. *Lancet*. 2008;371:1915–20.
15. Kikkert WJ, Claessen BE, van Geloven N, et al. Adjunctive thrombus aspiration versus conventional percutaneous coronary intervention in ST-elevation myocardial infarction. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013;81:922–9.
16. De Luca G, Dudek D, Sardella G, et al. Adjunctive manual thrombectomy improves myocardial perfusion and mortality in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *Eur Heart J*. 2008;29:3002–10.
17. Burzotta F, de Vita M, Gu YL, et al. Clinical impact of thrombectomy in acute ST-elevation myocardial infarction: an individual patient-data pooled analysis of 11 trials. *Eur Heart J*. 2009;30:2193–203.
18. Costopoulos C, Gorog DA, di Mario C, et al. Use of thrombectomy devices in primary percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2013;163:229–41.
19. Nilsen DW, Mehran R, Wu RS, et al. Coronary reperfusion and clinical outcomes after thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention: findings from the HORIZONS-AMI trial. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2013;82:594–601.
20. De Carlo M, Aquaro GD, Palmieri C, et al. A prospective randomized trial of thrombectomy versus no thrombectomy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction and thrombus-rich lesions: MUSTELA (MULTIdevice Thrombectomy in Acute ST-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction) trial. *JACC Cardiovasc Interv*. 2012;5:1223–30.

21. Frobert O, Lagerqvist B, Olivecrona GK, et al. Thrombus aspiration during ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2013;369:1587-97.
22. Stone GW, Maehara A, Witzenbichler B, et al. Intracoronary abciximab and aspiration thrombectomy in patients with large anterior myocardial infarction: the INFUSE-AMI randomized trial. *JAMA.* 2012;307:1817-26.
23. Rationale and design of the GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) Project: a multinational registry of patients hospitalized with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 2001;141:190-9.
24. Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, et al. TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: A convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation. An intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy. *Circulation.* 2000;102:2031-7.
25. Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, et al. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention.* 2005;1:219-27.
26. Ortiz-Perez JT, Meyers SN, Lee DC, et al. Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J.* 2007;28:1750-8.
27. Moral S, Rodriguez-Palomares JF, Descalzo M, et al. Quantification of myocardial area at risk: validation of coronary angiographic scores with cardiovascular magnetic resonance methods. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed).* 2012;65:1010-7.
28. Fuernau G, Eitel I, Franke V, et al. Myocardium at risk in ST-segment elevation myocardial infarction. Comparison of T2-weighted edema imaging with the MR-assessed endocardial surface area and validation against angiographic scoring. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2011;4:967-76.
29. Fokkema ML, Wieringa WG, van der Horst IC, et al. Quantitative analysis of the impact of total ischemic time on myocardial perfusion and clinical outcome in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2011;108:1536-41.
30. Quadros AS, Cambruzzi E, Sebben J, et al. Red versus white thrombi in patients with ST-elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: clinical and angiographic outcomes. *Am Heart J.* 2012;164:553-60.
31. Kramer MC, van der Wal AC, Koch KT, et al. Presence of older thrombus is an independent predictor of long-term mortality in patients with ST-elevation myocardial infarction treated with thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 2008;118:1810-6.
32. Verouden NJ, Kramer MC, Li X, et al. Histopathology of aspirated thrombus and its association with ST-segment recovery in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention with routine thrombus aspiration. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2011;77:35-42.
33. Magro M, Nauta ST, Simsek C, et al. Usefulness of the SYNTAX score to predict "no reflow" in patients treated with primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2012;109:601-6.
34. Giannitsis E, Steen H, Kurz K, et al. Cardiac magnetic resonance imaging study for quantification of infarct size comparing directly serial versus single time-point measurements of cardiac troponin T. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:307-14.
35. Mayr A, Mair J, Klug G, et al. Cardiac troponin T and creatine kinase predict mid-term infarct size and left ventricular function after acute myocardial infarction: a cardiac MR study. *J Magn Reson Imaging.* 2011;33:847-54.
36. Bertrand OF, Larose E, Costerousse O, et al. Effects of aspiration thrombectomy on necrosis size and ejection fraction after transradial percutaneous coronary intervention in acute ST-elevation myocardial infarction. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2011;77:475-82.
37. Weir RA, McMurray JJ, Velazquez EJ. Epidemiology of heart failure and left ventricular systolic dysfunction after acute myocardial infarction: prevalence, clinical characteristics, and prognostic importance. *Am J Cardiol.* 2006;97:13F-25F.
38. Antoni ML, Hoogslag GE, Boden H, et al. Cardiovascular mortality and heart failure risk score for patients after ST-segment elevation acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention (Data from the Leiden MISSION! Infarct Registry). *Am J Cardiol.* 2012;109:187-94.
39. Fiocca L, Guagliumi G, Rossini R, et al. Characteristics and outcomes of patients with ST-segment elevation myocardial infarction excluded from the Harmonizing Outcomes with Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction (HORIZONS-AMI) trial. *Am J Cardiol.* 2013;111:196-201.
40. Perazzolo Marra M, Lima JA, Iliceto S. MRI in acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2011;32:284-93.
41. Minha S, Kornowski R, Vaknin-Assa H, et al. The impact of intracoronary thrombus aspiration on STEMI outcomes. *Cardiovasc Revasc Med.* 2012;13:167-71.
42. Tsai TH, Yeh KH, Sun CK, et al. Estimated glomerular filtration rate as a useful predictor of mortality in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Am J Med Sci.* 2013;345:104-11.
43. Saltzman AJ, Stone GW, Claessen BE, et al. Long-term impact of chronic kidney disease in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: the HORIZONS-AMI (Harmonizing Outcomes With Revascularization and Stents in Acute Myocardial Infarction) trial. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011;4:1011-9.
44. Waksman R. The conundrum of thrombus aspiration: The TAPAS TASTE study. *Cardiovasc Revasc Med.* 2013;14:305-6.
45. Ndrepepa G, Tiroch K, Fusaro M, et al. 5-year prognostic value of no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:2383-9.

**3. Lack of Benefit of Ischemic Postconditioning After Routine Thrombus Aspiration During Reperfusion: Immediate and Midterm Results.**

Luz A, Santos M, Magalhães R, Silveira J, Cabral S, Dias V, Oliveira F, Pereira S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S. *J Cardiovasc Pharmacol Ther.* 2015 Nov;20(6):523-31.

# Lack of Benefit of Ischemic Postconditioning After Routine Thrombus Aspiration During Reperfusion: Immediate and Midterm Results

Journal of Cardiovascular  
Pharmacology and Therapeutics  
2015, Vol. 20(6) 523-531  
© The Author(s) 2015  
Reprints and permission:  
sagepub.com/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/1074248415578171  
cpt.sagepub.com



André Luz, MD<sup>1</sup>, Mário Santos, MD<sup>1,2</sup>, Rui Magalhães, MSc<sup>3</sup>, João Silveira, MD<sup>1,3</sup>,  
Sofia Cabral, MD<sup>1</sup>, Vasco Dias, MD<sup>1</sup>, Filomena Oliveira, MD<sup>1</sup>, Sousa Pereira, MD<sup>1</sup>,  
Adelino Leite-Moreira, MD, PhD<sup>2</sup>, Henrique Carvalho, MD, PhD<sup>1,3</sup>,  
and Severo Torres, MD<sup>1,3</sup>

## Abstract

**Objectives:** The underutilization of manual thrombus aspiration (MTA) may have reduced the benefits of ischemic postconditioning (PostCon), as it reduces thrombus embolization. We aimed to assess the benefits of PostCon in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) after the systematic utilization of MTA. **Methods:** A total of 87 patients were enrolled in a prospective, randomized trial (43 PostCon and 44 controls). After MTA, PostCon was performed on the treatment group by applying 4 cycles of alternate reperfusion and reocclusion (60 seconds each) using the angioplasty balloon. The primary end point was infarct size assessed by the area under the curve (AUC) of troponin T (TnT) activity. The secondary end points were left ventricle ejection fraction (LVEF) and major cardiac events (new myocardial infarction or cardiac death) both at discharge and at follow-up. **Results:** The AUC for TnT was no different with respect to study arms (median [interquartile range]): PostCon = 8.9 (10.6) versus control = 8.2 (10.6),  $P = .68$ . Left ventricle ejection fraction improved from in-hospital to follow-up (9 ± 3 months) for the entire cohort (46.3% ± 7.3% vs 52.2% ± 10.7%,  $P < .001$ ), with no differences between PostCon and controls (51.6% ± 9.5% vs 52.7% ± 11.9%,  $P = .89$ ); major cardiac events at 14 ± 4 months of follow-up were also no different (PostCon = 1.0 (2.3%) vs control = 0,  $P = .49$ ). **Conclusion:** In patients with STEMI treated with MTA, PostCon offered no benefits to infarct size, LVEF, or major cardiac events.

## Keywords

postconditioning, ST-segment elevation myocardial infarction, manual thrombectomy

## Introduction

Timely restoration of coronary blood flow by means of primary percutaneous intervention (PCI) is the recommended strategy to treat ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI).<sup>1</sup> Despite significant advances in mechanical reperfusion treatment, high rates of mortality and morbidity are still observed.<sup>2,3</sup> This may partially be ascribed to the reperfusion lesion. The concept that reperfusion itself could lead to myocardial injury captivated the attention of many investigators.<sup>4,5</sup> It is estimated that the reperfusion injury (RI) phenomenon may represent as much as half of the final infarct size.<sup>6</sup> Therefore, extensive research on treatments that could minimize the RI phenomenon has been pursued.

Ischemic postconditioning (PostCon) was first described by Zhao et al.<sup>7</sup> In a dog model, they found that intermittent occlusion of the coronary artery immediately after achieving reperfusion led to the same amount of myocardial salvage when

compared to preconditioning. While promising results were achieved in some human trials,<sup>8-12</sup> most of them failed to confirm the benefits of PostCon when compared to standard PCI.<sup>13-19</sup> A recent meta-analysis<sup>20</sup> showed that PostCon did not reduce infarct size as assessed by cardiac resonance imaging

<sup>1</sup> Cardiology Department, Porto Hospital Centre, Porto, Portugal

<sup>2</sup> Department of Physiology and Cardio-Thoracic Surgery, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal

<sup>3</sup> Institute of Biomedical Sciences "Abel Salazar," University of Porto, Porto, Portugal

**Manuscript submitted:** November 14, 2014; **accepted:** February 2, 2015.

## Corresponding Author:

André Luz, Centro Hospitalar do Porto, Largo Prof. Abel Salazar 4099-001, Porto, Portugal.  
Email: andrecoimbraluz@hotmail.com



(CMR). The interpretation of these conclusions should be cautious, given the significant heterogeneity across trials.

In recent trials testing PostCon, thrombus aspiration was limited (none to 30% of cases).<sup>8-19</sup> Manual thrombus aspiration (MTA) as an adjunct to reperfusion has been shown to reduce microvascular obstruction and infarct size as evaluated by CMR,<sup>21</sup> to preserve microvascular integrity<sup>22</sup> and to improve clinical outcomes,<sup>23,24</sup> and it has been included in the current STEMI guidelines<sup>1</sup> as a class IIa/B recommendation. However, a large recent trial showed that routine thrombus aspiration before PCI failed to reduce 1-year adverse clinical events in comparison with PCI alone,<sup>25</sup> shadowing the putative benefits of this empirical and easy-to-use technique. Its utilization either routinely or selectively in the United States ranges from 20% to 90% of all primary PCIs,<sup>26,27</sup> reflecting procedural variations in the interventional community. In our center, thrombectomy was used in more than 70% of cases over the last 6 years.<sup>28</sup> Nevertheless, coronary microembolization may offset cardioprotective measures,<sup>29</sup> and it is plausible that balloon angioplasty not preceded by thrombectomy may promote distal thrombus embolization and microvascular dysfunction, blunting the effects of PostCon.

Our aim was to study the effect of PostCon on myocardial infarct size in patients with STEMI treated with primary PCI after systematic utilization of MTA. The secondary end points were left ventricle ejection fraction (LVEF), both at discharge and at follow-up, and major adverse cardiac events.

## Methods

This was a prospective, single-center, randomized, controlled, open clinical trial. It was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the European Guidelines for Good Clinical Practice and was approved by the Ethics Committee of Porto Hospital Centre (223/11-139-DEFI/209-CES). All patients gave written informed consent.

### Study Population and Definitions

Patients with STEMI older than 18 years of age and within 12 hours from onset of symptoms, admitted to our center for primary PCI, were eligible for enrollment provided they fulfilled the following inclusion criteria: ST-segment elevation  $\geq 0.1$  mV ( $\geq 0.2$  mV at V1 and V3) in 2 contiguous electrocardiogram (ECG) leads or new left bundle branch block and a thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) 0 flow in the infarct-related artery without significant collaterals (Rentrop grade 0 or 1). Patients with bypass grafts, severe renal impairment (creatinine clearance by Cockcroft-Gault formula  $<30$  mL/min/1.73 m<sup>2</sup>), previous myocardial infarction on culprit vessel, Killip-Kimball class on presentation  $\geq 3$ , life expectancy  $<12$  months, culprit vessel diameter  $<2.5$  mm, lesion deemed not suitable for MTA or stent implantation, infarction due to left main coronary artery occlusion, and refusal or impossibility to give informed consent were excluded. Total ischemic time, door-to-balloon, and ECG-to-balloon times

were determined as the periods elapsed from the onset of chest pain, hospital admittance, and diagnostic ECG, respectively, to the passage of the coronary occlusion with the first device (aspiration catheter or angioplasty balloon/stent). For each patient, the TIMI risk score for STEMI<sup>30</sup> and the SYNTAX<sup>31</sup> score were calculated. The SYNTAX score version 2.11 was calculated by scoring all coronary lesions with a diameter stenosis  $>50\%$  in vessels  $>1.5$  mm by 2 senior interventional cardiologists. The infarct-related artery with TIMI 0 flow was scored as an occlusion  $<3$  months duration.

### Study Design and Protocol

Patients were loaded with 300 mg aspirin and 600 mg clopidogrel before PCI. The 6F catheterization was performed by radial or femoral approach. Following angiogram acquisition, unfractionated heparin 70 IU/kg was administered on a peripheral vein and 3 mg nitroglycerin was given intracoronarily. Patients were then randomized 1:1 to either the PostCon protocol or the standard (control) PCI after opening a sealed opaque envelope. The block randomization sequence was computer generated by an investigator not involved in patient care (RM). The sealed envelopes were transferred to the catheterization laboratory and were consecutively numbered. Manual thrombus aspiration was exclusively performed by a 6F Export device (Medtronic, Minneapolis, Minnesota). If reflow (TIMI  $\geq 2$ ) was restored after guidewire passage or the aspiration device was unable to reach the lesion, the patient was excluded. After MTA, patients allocated to the PostCon arm underwent 4 cycles of 60 seconds reperfusion followed by 60 seconds reocclusion at low pressure (6 atm), with either the angioplasty balloon (in case the lesion was predilated) or the balloon stent (in case of direct stenting), whichever came first. Aspiration was considered effective if TIMI 2 to 3 flow was achieved on the target vessel provided the occlusion was crossed by the device. The PostCon sequence had to commence within 5 minutes after reflow if the aspiration was effective. Where MTA was ineffective, the PostCon sequence started with the angioplasty balloon. The type of stent, adjunct medication, or devices were left to the operator's discretion. After PCI, patients were admitted to the cardiac care unit where evidence-based medications were administered accordingly. Blood samples were collected on hospital admittance and at 6, 12, 24, 48, and 72 hours after PCI. On discharge from the hospital, patients were instructed to take aspirin indefinitely and clopidogrel for at least 1 year.

### Area at Risk, Infarct Size, and Left Ventricle Function

The area at risk (AAR) was estimated by angiography using the Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Disease Score (APPROACH score). In brief, this score estimates the percentage of the myocardium that is perfused by each segment of the 3 major epicardial vessels, in accordance to the anatomical dominance and size of side branches. It is well correlated with the AAR as estimated by CMR.<sup>32,33</sup> The infarct size was estimated by the area under the

curve (AUC, arbitrary units) for troponin T (TnT) activity in plasma. Troponin T was measured on a third-generation Elecsys Modular Analytics e170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Left ventricle ejection fraction was determined by 2-dimensional echocardiography (Phillips iE33, Eindhoven, the Netherlands), using the biplane Simpson method on all patients prior to hospital discharge and on scheduled follow-up visits. The LVEF was calculated, by consensus, by 2 senior echocardiographers blinded to the study arm.

### Major Cardiac Events and Follow-Up

All participating patients were monitored in the outpatient clinic. Major cardiac events were considered to be death from cardiac causes or recurrent myocardial infarction (MI). By default, death was presumed to be of cardiac origin unless another cause was identified. MI was defined as a new (with or without Q-wave) infarction as described elsewhere.<sup>34</sup>

### Statistical Analyses

Based on previous trials and in basic research,<sup>6,20,35</sup> a 20% reduction in infarct size in patients submitted to PostCon was anticipated. A sample comprising 66 patients was considered necessary (power = 80%,  $\alpha = .05$  in a 2-tailed test). To compensate for missing samples and patient dropout, we decided to enroll 90 patients. Continuous normally distributed data are expressed by mean  $\pm$  standard deviation (SD) and compared using Student's *t* test, while nonnormally distributed data are expressed by medians and interquartile range (IQR) and compared using Mann-Whitney *U* test. Categorical variables are expressed by percentages and compared using chi-square or Fisher exact tests. The AUC for TnT was calculated by the trapezoidal rule and was Log(10) transformed to enable parametric tests. Linear regression was generated to compare the AUC for both study groups in accordance with the AAR. Left ventricle ejection fraction was compared between study groups both in-hospital and at follow-up by repeated measures analysis of variance. All tests were 2-sided, and  $P < .05$  was considered significant. Analysis was performed using the perprotocol principle and all data were analyzed using SPSS v.20 (SPSS, Chicago, Illinois).

### Results

Patient enrollment occurred between March 2012 and April 2014. During this period, 321 patients with STEMI were admitted to primary PCI (Figure 1). One hundred patients met the inclusion criteria and entered randomization. The MTA was not performed in 11 cases and the patients were excluded after randomization: 3 of these (2 PostCon and 1 control) were due to excessive coronary tortuosity not amenable for the aspiration catheter to cross the lesion, and in the remaining cases, reflow was achieved after crossing the occlusion with the coronary guidewire. One patient in the PostCon group was excluded due to technical difficulties in performing the PostCon sequence within the 5-minute frame, and 1 patient was excluded from the

control group due to the absence of a significant coronary lesion after MTA. Therefore, 43 patients in the PostCon group and 44 in the control group entered final analysis. Both groups were well balanced on clinical (Table 1) and procedural (Table 2) characteristics, except for the radial approach which was used less often in the PostCon group, and a trend toward more postdilation in the control group. Overall, most of the patients were reperfused within 4 hours from symptoms onset. The majority had single-vessel disease, and the culprit vessel in almost half of the patients in both groups was the left anterior descending artery. The MTA was considered effective in 41 (95.3%) patients in the PostCon group and in 39 (88.6%) in the control group ( $P = .43$ ). The time elapsed from removing the aspiration device to first inflation of the balloon/stent was  $1.5 \pm 0.5$  minutes for PostCon and  $1.6 \pm 0.6$  minutes for controls ( $P = .52$ ).

### Infarct Size

For the entire cohort, 6 (1.1%) blood samples were lost. Because all missing samples were from the descending arm of the curve, missing values were calculated as the average of the 2 flanking samples. The AUC for TnT was not significantly different between study groups (median AUC = 8.9 [IQR = 10.6] for PostCon vs 8.2 [IQR = 10.6] for the control group,  $P = .68$ ; Figure 2). Additionally, the regression line to fit the infarct size with respect to the AAR failed to show differences between study arms ( $P$  for interaction = .35; Figure 3).

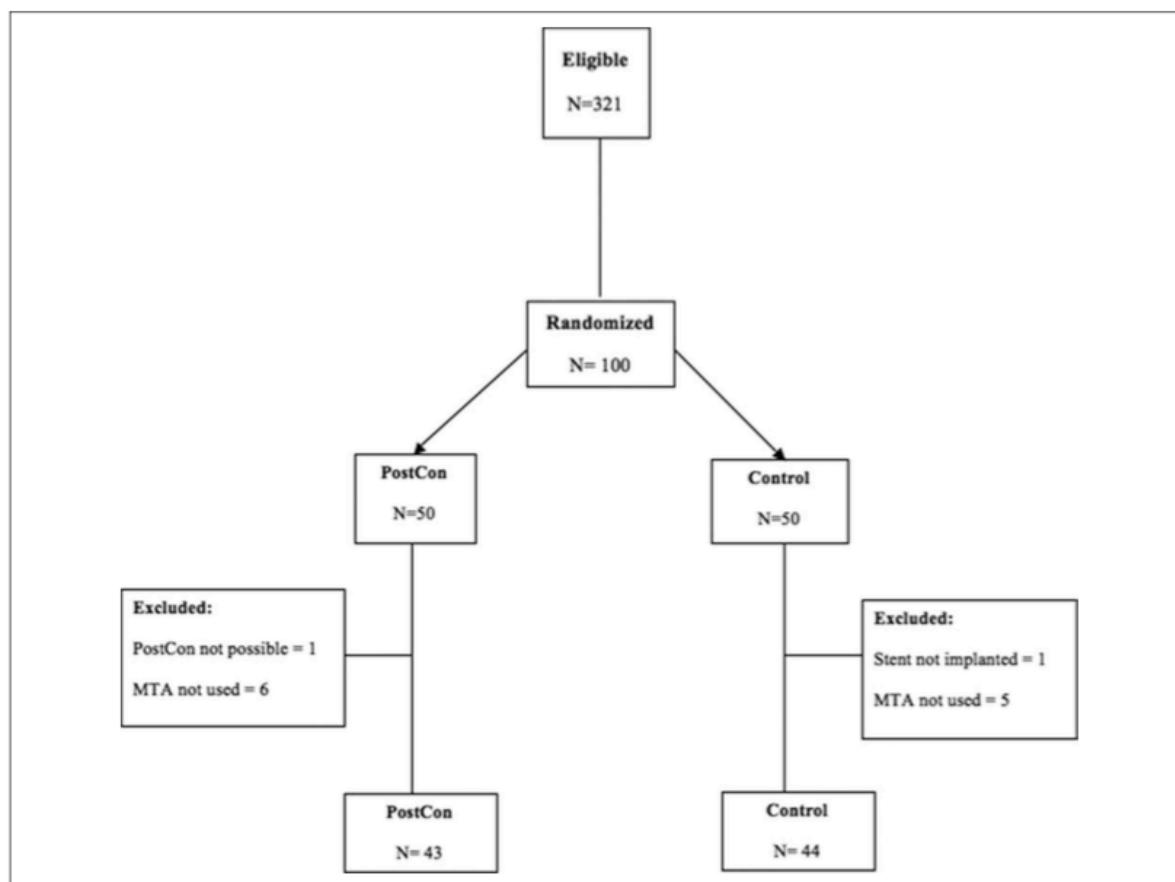
### Left Ventricular Ejection Fraction and Cardiac Events

In-hospital echocardiography was performed on all patients after PCI ( $4 \pm 3$  days), LVEF was no different for PostCon versus control ( $47.1\% \pm 7.7\%$  vs  $45.9\% \pm 7.1\%$ ,  $P = .46$ ). Seventy-three (84%) patients underwent follow-up echocardiographic evaluation ( $9 \pm 3$  months). Left ventricle ejection fraction had significantly improved at follow-up for the entire cohort ( $46.3\% \pm 7.3\%$  vs  $52.2\% \pm 10.7\%$ ,  $P < .001$ ), with no differences between PostCon and control groups ( $51.6\% \pm 9.5$  vs  $52.7\% \pm 11.9$ , respectively,  $P = .89$ ; Figure 4).

No cardiac-related deaths occurred, either in hospital or at follow-up ( $14 \pm 4.3$  months). Only 1 (1.1%) cardiac event occurred: 1 patient in the PostCon group had subacute stent thrombosis (MI) and repeated PCI successfully. Two patients died from noncardiovascular causes, one due to purulent mediastinitis and the other had multiorgan failure after complicated pneumonia. At follow-up, there were no differences in the ongoing medications between PostCon and controls groups; all patients were on a statin and the majority was on beta-blockers (35 [83%] vs 41 [92%],  $P = .19$ ) and angiotensin-converting enzyme inhibitors (26 [62%] vs 26 [59%],  $P = .79$ ).

### Discussion

The present study demonstrates that PostCon failed to reduce infarct size when compared to standard PCI after the routine



**Figure 1.** Patient flowchart. PostCon indicates postconditioning; MTA, manual thrombus aspiration.

utilization of MTA. Additionally, no differences were found in major cardiac events or in LVEF both in-hospital and at follow-up.

The translation of PostCon experimental results into the clinical practice may be hampered by several factors.<sup>36-38</sup> In contrast to animal experiments, patients may have large plaque and thrombus burden and are likely to have diffuse distal coronary disease, which could lead to microvascular occlusion and therefore blunt the effects of local PostCon.<sup>29</sup> Our study explored this important issue by requiring routine utilization of MTA in enrolled patients. We hypothesized that MTA would reduce thrombus burden, which would prevent distal embolization and therefore enhance the putative benefits of PostCon. Furthermore, a time window of no longer than 5 minutes after MTA to initiate PostCon protocol was mandatory, to limit RI dependent on abrupt reflow. Although initial animal studies showed that cardioprotection is lost if the PostCon maneuver was applied several minutes after resumption of flow,<sup>7,39</sup> others had questioned that by providing evidence that cardioprotection exists even if PostCon was performed after a prolonged period of reperfusion (delayed conditioning).<sup>40</sup>

Unfortunately, this was not confirmed in a clinical study that showed no impact of PostCon in patients already with TIMI 2 to 3 flow on admission.<sup>41</sup> Therefore, a "second window" of opportunity could not be anticipated and thus PostCon had to be performed as soon as possible after reflow was achieved. The time elapsed from the retrieval of the thrombectomy device, and the first inflation of the balloon/stent was short, averaging 1.6 minutes in the PostCon group which is the time needed to open the package with the balloon or stent and to assemble it on the guidewire. Nevertheless, it might be long enough for the mitochondrial permeability transition pore to open and trigger cell death, as the effective window for the first reperfusion period in humans is unknown.

Common risk factors as well as ongoing and periprocedural medication may condition the heart to a level at which PostCon becomes redundant.<sup>38,42</sup> One elegant study from Yang et al<sup>43</sup> found that clopidogrel (and cangrelor) may act as conditioning mimetics acting in the same signaling pathways as PostCon. The benefits of these agents during reperfusion may well be larger than that provided by their antiplatelet properties. One may speculate that in later PostCon trials, all patients who were

**Table 1.** Baseline Features of Studied Patients.

	PostCon (n = 43)	Control (n = 44)	P Value
<b>Demographics and risk factors</b>			
Age, mean $\pm$ SD	57 $\pm$ 13	58 $\pm$ 12	.67
Male, n (%)	38 (88.4)	36 (81.8)	.39
Body mass index, kg/m <sup>2</sup> , mean $\pm$ SD	26 $\pm$ 3	27 $\pm$ 4	.44
Diabetes, n (%)	8 (18.6)	5 (11.4)	.34
Dyslipidemia, n (%)	21 (48.8)	21 (47.7)	.91
Hypertension, n (%)	22 (51.2)	19 (43.2)	.46
Current Smoker, n (%)	26 (60.5)	30 (68.2)	.45
Pre infarct angina, n (%)	18 (41.9)	14 (32.6)	.37
Previous myocardial infarction, n (%)	1 (2.3)	0 (0)	.31
Creatinine, (mg/dL), median (IQR)	0.9 (0.3)	0.9 (0.4)	.42
Creatinine clearance, mL/min, mean $\pm$ SD	100 $\pm$ 33	96 $\pm$ 37	.52
Hemoglobin, g/dL, median (IQR)	14.9 (2.8)	14.9 (2.1)	.88
Killip class, n (%)			.56
1	38 (88.4)	40 (90.9)	
2	5 (11.6)	4 (9.1)	
TIMI score, median (IQR)	3 (3)	2 (2)	.39
<b>Ongoing medication</b>			
Aspirin, n (%)	3 (7)	3 (6.8)	1.00
Clopidogrel, n (%)	1 (2.3)	0 (0)	.49
Beta-blocker, n (%)	5 (11.6)	2 (4.5)	.27
Statin, n (%)	6 (14)	12 (27.3)	.13
Angiotensin receptor blocker, n (%)	11 (25.6)	6 (13.6)	.16
ACEi, n (%)	5 (11.6)	4 (9.1)	.74
Calcium channel blocker, n (%)	4 (9.3)	4 (9.1)	1.00
Nitrates, n (%)	4 (9.3)	5 (11.4)	1.00
Oral antidiabetics, n (%)	3 (7)	5 (11.4)	.71
Insulin, n (%)	2 (4.7)	0 (0)	.24

Abbreviations: ACEi, angiotensin-converting enzyme inhibitor; SD, standard deviation; IQR, interquartile range; TIMI, thrombolysis in myocardial infarction; PostCon, postconditioning.

loaded with clopidogrel may have already been conditioned to a level rendering PostCon futile.<sup>44</sup> However, clopidogrel is slow to be converted into the active drug, and conditioning is related to its capability to block platelet aggregation. Therefore, the time from the loading dose to PCI may impact the effects of cardioprotective maneuvers that take place at reperfusion. Our patients were loaded either upon hospital admission or in the ambulance, never in the catheterization laboratory. It is therefore conceivable that some degree of conditioning may have been provided by clopidogrel.

Nitroglycerine administration is routinely used in many catheterization laboratories during PCI. Nitric oxide donors like exogenous nitroglycerine induced early and late preconditioning in rabbits.<sup>45</sup> In our study, patients on nitrates were infrequent and balanced between groups; therefore, the presumed preconditioning effect of these drugs was neither a confounding factor nor a competitor to PostCon in the conditioning action.

Another drug used in PCI that can interfere with the reperfusion lesion are opioids. One small trial involving a

**Table 2.** Procedural and Angiographic Characteristics.

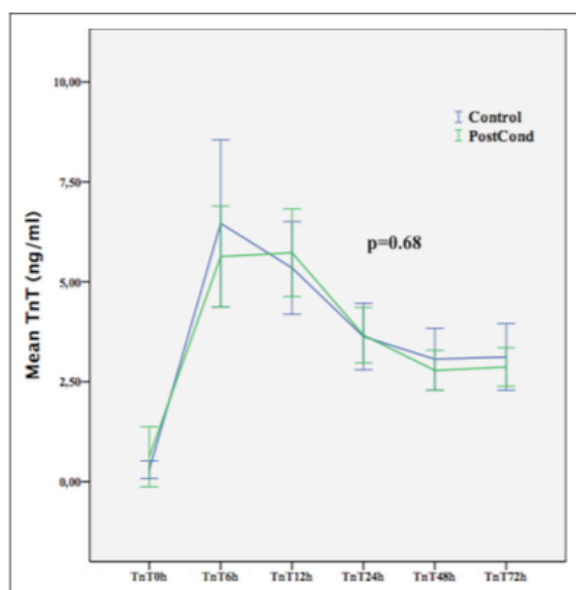
	PostCon (n = 43)	Control (n = 44)	P Value
<b>Times to reperfusion, min, median (IQR)</b>			
Total ischemic time	199 (131)	220 (121)	.28
Door-to-balloon	72 (45)	72 (40)	.98
ECG-to-balloon	61 (63)	71 (40)	.50
<b>Procedure</b>			
Nr of diseased vessels (>50% stenosis) n (%)			.87
1	23 (53.5)	23 (52.3)	
2	13 (30.2)	12 (27.3)	
3	7 (16.3)	9 (20.5)	
Culprit vessel, n (%)			.31
Left descending artery	20 (46.5)	19 (43.2)	
Left circumflex artery	8 (18.6)	4 (9.1)	
Right coronary artery	15 (34.9)	21 (47.7)	
Thrombectomy efficiency, n (%)	41 (95.3)	39 (88.6)	.43
Type of stent, n (%)			0.59
Drug-eluting stent	28 (65.1)	31 (70.5)	
Bare-metal stent	15 (34.9)	13 (29.5)	
Number of stents implanted, median (IQR)	1 (0)	1 (0)	.58
Direct stenting, n (%)	33 (76.7)	32 (72.2)	.67
Stent diameter (mm), median(IQR)	3 (0.5)	3 (.5)	.92
Total stent length (mm) median(IQR)	22 (12)	23 (16)	.63
Stent Post-dilation, n (%)	10 (23.3)	18 (40.9)	.08
Radial approach, n (%)	38 (88.4)	44 (100)	.03
2b/3a inhibitors n(%)	14 (32.5)	11 (25)	.42
Adenosine, n (%)	2 (4.7)	2 (4.5)	1.00
Opiates, n (%)	36 (83.7)	41 (93.2)	.20
<b>Angiographic scores, median (IQR)</b>			
SYNTAX score	16.5 (8.5)	16.5 (6.9)	.84
APPROACH score	27.8 (7.95)	27.5 (7.95)	.58

Abbreviations: ECG, electrocardiogram; IQR, interquartile range; PostCon, postconditioning.

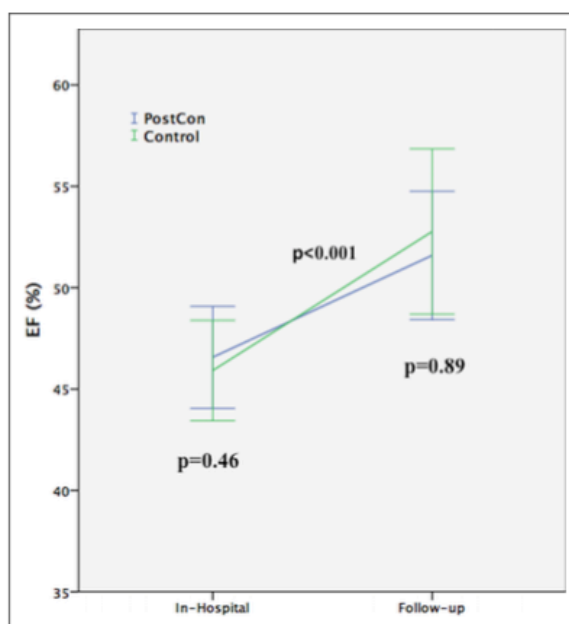
remifentanyl infusion given to patients undergoing bypass surgery reduced troponin I release, 12 hours postoperatively.<sup>46</sup> The potential for short-acting opioids such as remifentanyl to exert PostCon during reperfusion was also studied. In the animal model, remifentanyl appeared to have properties similar to PostCon by acting on both  $\kappa$  and  $\delta$  receptors, which are thought to trigger PostCon.<sup>47</sup> Another study showed that the protective effect provided by remote ischemic preconditioning is enhanced by morphine if given to patients before reperfusion.<sup>48</sup> In our series, the opioids that were used to manage pain were fentanyl and morphine. In summary, patients enrolled in trials testing PostCon during reperfusion may have been exposed to pharmacological agents that may have already activated cardioprotective pathways. This factor is obviously not accounted for in the experimental settings.

One could always argue many trials published so far were relatively small because the estimated reduction in infarct size of around 20% in the PostCon groups was too optimistic. However, one medium-size<sup>18</sup> trial with infarct size evaluated by CMR and clinical end points and one large<sup>17</sup> trial that evaluated

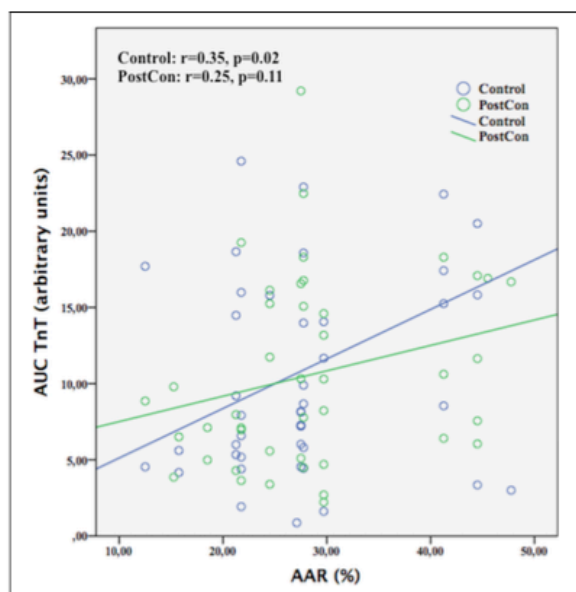




**Figure 2.** Mean troponin-T (TnT) activity and 95% confidence intervals from before (TnT0h) to 72 hours after intervention. PostCon indicates postconditioning.



**Figure 4.** Mean ejection fraction (EF%) and 95% confidence interval for both groups in-hospital and at follow-up.



**Figure 3.** Infarct size measured by the area under curve of troponin-T (AUC TnT) activity vs area at risk (AAR) assessed by the angiographic APPROACH score. The regression lines for both groups don't differ significantly ( $P = .35$ ).

ST-segment resolution and clinical end points failed to disclose the benefits of PostCon. Another explanation comes from the kind of patients enrolled. Similar to previous trials, we only

included low-risk patients with STEMI. We speculate that in STEMI's involving large areas at risk<sup>13</sup> or in patients with hemodynamic instability, the anticipated benefits of PostCon could be higher.

Only 1 cardiovascular event occurred. The causes that promote stent thrombosis are multiple, so it is hard to relate this single event to the PostCon protocol itself. The improvement in LVEF at follow-up reflects the myocardial stunning that occurs shortly after reperfusion. Therefore, LVEF at follow-up may better reflect final left ventricle dysfunction, and it should be taken in consideration in future trials that aim to study the impact of novel methods of cardioprotection.

Preconditioning and PostCon seem to share common signaling pathways,<sup>49</sup> and it appears that both generate similar stimulus to the cell surface, which are then transduced to the intracellular targets of cardioprotection. One of its goals is the inhibition of the opening of the mitochondrial permeability transition pore, which is a key player in the process that underlies RI. However, contrary to the negative results achieved by PostCon, preconditioning, manifested as preinfarction angina, has been regularly related to lesser infarct size.<sup>28,50</sup> Also, apparently in the opposite direction from PostCon, remote ischemic conditioning (in which short cycles of transient nonlethal ischemia in an organ or tissue confers resistance to a subsequent lethal ischemia RI in a remote organ or tissue<sup>51</sup>) has gathered exciting results in patients with STEMI,<sup>48,52</sup> even if the mechanism behind it is still largely unknown. Why PostCon fails to replicate the effects of other methods in promoting cardioprotection

despite sharing similar underlying mechanisms remains unknown.

### Limitations

The major limitation of our trial is that CMR was not used to quantify the extent of the infarct. Instead, we used troponin and the angiographic AAR as surrogates for infarct size and AAR, respectively. Their limited accuracy should be considered when interpreting the results of our trial. We may also have overestimated the presumed benefits of MTA; given the absence of a group without MTA to address its effectiveness, the significance of the negative findings of PostCon beyond MTA may be questionable. The small sample size limits the power to detect differences in primary and secondary end points, increasing the chance of a type II error. Our small sample size also increases the vulnerability of our study design to confounding; however, this limitation was significantly mitigated by the use of concealed allocation and randomization.

### Conclusion

After routine utilization of MTA, PostCon failed to reduce infarct size and to improve LVEF and major clinical events. Our results are consistent with previous studies and together question the presence of a meaningful clinical benefit of PostCon in patients with STEMI treated with current mechanical and pharmacological therapeutic modalities. Given the importance of reperfusion damage, development of further treatments acting on its mechanisms should be pursued.

### Author Contribution

André Luz contributed to conception and design, contributed to acquisition, analysis, and interpretation, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, and agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Mário Santos contributed to conception and design, contributed to acquisition, analysis, and interpretation, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, and agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Rui Magalhães contributed to design, contributed to analysis and interpretation, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Vasco Dias contributed to conception, contributed to analysis, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Sofia Cabral contributed to conception and design, contributed to acquisition, analysis, and interpretation, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Filomena Oliveira contributed to conception, contributed to analysis drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Sousa Pereira contributed to conception contributed to analysis drafted manuscript critically

revised manuscript, gave final approval, and agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Adelino Leite-Moreira contributed to conception and design, contributed to acquisition, analysis, and interpretation, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy. Severo Torres contributed to design, contributed to analysis, drafted manuscript, critically revised manuscript, gave final approval, agrees to be accountable for all aspects of work ensuring integrity and accuracy.

### Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

### Funding

The author(s) received no financial support for the research, authorship, and/or publication of this article.

### References

1. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2012;33(20):2569-2619.
2. Hoebbers LP, Claessen BE, Woudstra P, et al. Long-term mortality after primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction in patients with insulin-treated versus non-insulin-treated diabetes mellitus. *EuroIntervention*. 2014;10(1):90-96.
3. Cale R, de Sousa L, Pereira H, Costa M, de Sousa Almeida M, Investigadores do Registo Nacional de Cardiologia de Intervenção. Primary angioplasty in women: data from the Portuguese registry of interventional cardiology. *Rev Port Cardiol*. 2014;33(6):353-361.
4. Jennings RB. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res*. 2013;113(4):428-438.
5. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest*. 1985;76(5):1713-1719.
6. Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B. Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the "dark side" of reperfusion. *Circulation*. 2009;120(21):2105-2112.
7. 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-H588.
8. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. PostConditioning the human heart. *Circulation*. 2005;112(14):2143-2148.
9. 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):361-367.
10. 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):2175-2181.
11. Ma X, Zhang X, Li C, Luo MAN. Effect of PostConditioning on coronary blood flow velocity and endothelial function and LV recovery after myocardial infarction. *J Interv Cardiol*. 2006;19(5):367-375.

12. 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.
13. 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):1710-1715.
14. 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):103-112.
15. 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):33-38.
16. 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):482-490.
17. Hahn JY, Song YB, Kim EK, et al. Ischemic PostConditioning during primary percutaneous coronary intervention: the effects of PostConditioning on myocardial reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (POST) randomized trial. *Circulation.* 2013;128(17):1889-1896.
18. Limalanathan S, Andersen GO, Klow NE, Abdelnoor M, Hoffmann P, Eritsland J. Effect of ischemic PostConditioning on infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction treated by primary PCI results of the POSTEMI (PostConditioning in ST-Elevation Myocardial Infarction) randomized trial. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(2):e000679.
19. Roubille F, Mewton N, Elbaz M, et al. No post-conditioning in the human heart with thrombolysis in myocardial infarction flow 2-3 on admission. *Eur Heart J.* 2014;35(25):1675-1682.
20. 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):946-952.
21. Sardella G, Mancone M, Bucciarelli-Ducci C, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention improves myocardial reperfusion and reduces infarct size: the EXPIRA (thrombectomy with export catheter in infarct-related artery during primary percutaneous coronary intervention) prospective, randomized trial. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(4):309-315.
22. Woo SI, Park SD, Kim DH, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention for preserving the index of microcirculatory resistance: a randomised study. *EuroIntervention.* 2014;9(9):1057-1062.
23. Burzotta F, De Vita M, Gu YL, et al. Clinical impact of thrombectomy in acute ST-elevation myocardial infarction: an individual patient-data pooled analysis of 11 trials. *Eur Heart J.* 2009;30(18):2193-2203.
24. Costopoulos C, Gorog DA, Di Mario C, Kukreja N. Use of thrombectomy devices in primary percutaneous coronary intervention: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2013;163(3):229-241.
25. Lagerqvist B, Fröbert O, Olivecrona GK, et al. Outcomes 1 Year after Thrombus Aspiration for Myocardial Infarction. *N Engl J Med.* 2014;371(12):1111-1120.
26. Owan TE, Roe MT, Messenger JC, Dai D, Michaels AD. Contemporary use of adjunctive thrombectomy during primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction in the United States. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2012;80(7):1173-1180.
27. Chiang A, Gada H, Kodali SK, et al. Procedural variation in the performance of primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: a SCAI-based survey study of US interventional cardiologists. *Catheter Cardiovasc Interv.* 2014;83(5):721-726.
28. Luz A, Santos M, Rodrigues P, et al. Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis.* 2015;26(1):22-29.
29. Heusch G, Kleinbongard P, Skyschally A, Levkau B, Schulz R, Erbel R. The coronary circulation in cardioprotection: more than just one confounder. *Cardiovasc Res.* 2012;94(2):237-245.
30. Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, et al. TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: A convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: An intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial sub-study. *Circulation.* 2000;102(17):2031-2037.
31. Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, et al. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention.* 2005;1(2):219-227.
32. Ortiz-Perez JT, Meyers SN, Lee DC, et al. Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J.* 2007;28(14):1750-1758.
33. Fuernau G, Eitel I, Franke V, et al. Myocardium at risk in ST-segment elevation myocardial infarction comparison of T2-weighted edema imaging with the MR-assessed endocardial surface area and validation against angiographic scoring. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2011;4(9):967-976.
34. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 2012;33(20):2551-2567.
35. Hausenloy DJ. Conditioning the heart to prevent myocardial reperfusion injury during PPCI. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care.* 2012;1(1):13-32.
36. Ovize M, Thibault H, Przyklenk K. Myocardial conditioning: opportunities for clinical translation. *Circ Res.* 2013;113(4):439-450.
37. Kloner RA. Current state of clinical translation of cardioprotective agents for acute myocardial infarction. *Circ Res.* 2013;113(4):451-463.
38. Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, PostConditioning, and remote conditioning. *Pharmacol Rev.* 2014;66(4):1142-1174.
39. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al. PostConditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc Res.* 2004;62(1):74-85.
40. Roubille F, Franck-Miclo A, Covinhas A, et al. Delayed PostConditioning in the Mouse Heart In Vivo. *Circulation.* 2011;124(12):1330-1336.

41. Roubille F, Mewton N, Elbaz M, et al. No post-conditioning in the human heart with thrombolysis in myocardial infarction flow 2-3 on admission. *Eur Heart J*. 2014;35(25):1675-1682.
42. Sivaraman V, Yellon DM. Pharmacologic therapy that simulates conditioning for cardiac ischemic/reperfusion injury. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2014;19(1):83-96.
43. Yang XM, Liu Y, Cui L, et al. Platelet P2Y<sub>1</sub>(2) blockers confer direct PostConditioning-like protection in reperfused rabbit hearts. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2013;18(3):251-262.
44. Roubille F, Lairez O, Mewton N, et al. Cardioprotection by clopidogrel in acute ST-elevated myocardial infarction patients: a retrospective analysis. *Basic Res Cardiol*. 2012;107(4):275.
45. Iliodromitis EK, Gaitanaki C, Lazou A, et al. Differential activation of mitogen-activated protein kinases in ischemic and nitroglycerin-induced preconditioning. *Basic Res Cardiol*. 2006;101(4):327-335.
46. Wong GT, Huang Z, Ji S, Irwin MG. Remifentanyl reduces the release of biochemical markers of myocardial damage after coronary artery bypass surgery: a randomized trial. *J Cardiothorac Vasc Anesth*. 2010;24(5):790-796.
47. Wong GT, Li R, Jiang LL, Irwin MG. Remifentanyl post-conditioning attenuates cardiac ischemia-reperfusion injury via kappa or delta opioid receptor activation. *Acta Anaesthesiol Scand*. 2010;54(4):510-518.
48. Rentoukas I, Giannopoulos G, Kaoukis A, et al. Cardioprotective role of remote ischemic preconditioning in primary percutaneous coronary intervention: enhancement by opioid action. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010;3(1):49-55.
49. Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and PostConditioning: united at reperfusion. *Pharmacol Ther*. 2007;116(2):173-191.
50. Reiter R, Henry TD, Traverse JH. Preinfarction angina reduces infarct size in ST-elevation myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv*. 2013;6(1):52-58.
51. Hausenloy DJ, Yellon DM. Remote ischaemic preconditioning: underlying mechanisms and clinical application. *Cardiovasc Res*. 2008;79(3):377-386.
52. White SK, Frohlich GM, Sado DM, et al. Remote ischemic conditioning reduces myocardial infarct size and edema in patients with ST-Segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Interv*. 2014;8(1 pt B):178-188.

- 4. Soluble TNF-related apoptosis induced ligand (sTRAIL) is augmented by Post-Conditioning and correlates to infarct size and left ventricle dysfunction in STEMI patients: a substudy from a randomized clinical trial.**

Luz A, Santos M, Magalhães R, Oliveira JC, Pacheco A, Silveira J, Cabral S, Torres S, Leite-Moreira AF, Carvalho H. *Heart Vessels*. 2017 Feb;32(2):117-125.



## ORIGINAL ARTICLE

## Soluble TNF-related apoptosis induced ligand (sTRAIL) is augmented by Post-Conditioning and correlates to infarct size and left ventricle dysfunction in STEMI patients: a substudy from a randomized clinical trial

André Luz<sup>1</sup> · Mário Santos<sup>1,4</sup> · Rui Magalhães<sup>3</sup> · José Carlos Oliveira<sup>2,3</sup> · Ana Pacheco<sup>2</sup> · João Silveira<sup>1,3</sup> · Sofia Cabral<sup>1</sup> · Severo Torres<sup>1,3</sup> · Adelino F. Leite-Moreira<sup>4</sup> · Henrique Carvalho<sup>1,3</sup>

Received: 13 January 2016 / Accepted: 20 May 2016 / Published online: 26 May 2016  
© Springer Japan 2016

**Abstract** Low levels of Soluble TNF-related apoptosis induced ligand (sTRAIL) seem to be related to worse prognosis after an acute coronary syndrome. Post-Conditioning (PostCond) may protect the heart from reperfusion injury. We sought to evaluate the impact of PostCond on sTRAIL in relationship to infarct size (area under the curve of Troponin T, AUCTnT) and left ventricle ejection fraction (LVEF) in a series of patients undergoing primary coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI). In a substudy of a randomized trial that tested the effects of PostCond in STEMI-patients, sTRAIL was measured 24 h after reperfusion (PostCond n = 39, Control n = 39). Correlations between sTRAIL and both AUCTnT and LVEF were studied for each study arm. At 24 h, sTRAIL was higher for PostCond vs Controls ( $46.4 \pm 30.6$  vs  $32.9 \pm 23.4$ ,  $p = 0.031$ ), was negatively related to AUCTnT [ $B = -0.09$ , 95 % CI ( $-0.15$  to  $-0.30$ ),  $p = 0.005$ ] and was positively related to both in-hospital [ $B = 0.10$ , 95 % CI ( $0.02$ – $0.17$ ),  $p = 0.018$ ], and follow-up LVEF [ $B = 0.21$ , 95 % ( $0.10$ – $0.32$ ),  $p = 0.001$ ]. No significant relationship was found for Controls. On multivariate analysis, PostCond was an independent predictor

for sTRAIL [ $B = 12.13$  95 % CI ( $0.40$ – $23.87$ ),  $p = 0.043$ ]. In conclusion, PostCond positively influenced sTRAIL, which was related to reduced infarct size and better LVEF. Further studies are needed to understand potential mechanisms elicited by PostCond in infarct size reduction.

**Keywords** Post-conditioning · sTRAIL · ST-elevation myocardial infarction · Apoptosis

### Introduction

Timely reperfusion of patients presenting with ST-elevation myocardial infarction (STEMI), preferably by primary percutaneous coronary intervention (PCI), aims to rescue myocardium at risk and it is the current standard of care [1]. Although the developments in the reperfusion technique and adjunct pharmacology have been substantial, significant mortality and morbidity are still observed even in well-organized cardiac care networks [2, 3]. A major contributor to infarct size is the detrimental effect imposed by the reperfusion injury (RI) phenomenon, which may be responsible for as much as half of the final infarct size [4]. As basic research paved the way to better understand the RI phenomenon [5–7], translation of the gained insight from bench experiments to the clinical arena has been disappointing [8, 9]. Ischemic postconditioning (PostCond), defined by transient episodes of ischemia/reperfusion caused by the intermittent reperfusion of an infarcted coronary artery, reduced infarct size by 44 % in a canine model [10]. In the clinical field, this maneuver has been replicated by producing repetitive inflation/deflation of a coronary angioplasty balloon during PCI. However, the impact of PostCond in humans has been controversial, as clinical trials produced conflicting results [11–13].

✉ André Luz  
andrecoimbraluz@hotmail.com

<sup>1</sup> Cardiology Department, Centro Hospitalar do Porto, Largo Prof. Abel Salazar 4099-001, Porto, Portugal

<sup>2</sup> Clinical Chemistry Department, Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal

<sup>3</sup> Institute of Biomedical Sciences of “Abel Salazar” (ICBAS), University of Porto, Porto, Portugal

<sup>4</sup> Department of Physiology and Cardiothoracic Surgery, Faculty of Medicine (FMUP), University of Porto, Porto, Portugal



Apoptosis is one of the main mechanisms underlying the RI phenomenon [14–18] as there is histological data showing that necrosis and apoptosis coexist in the infarcted myocardium [19–21]. Furthermore, experiments using animal models of RI had suggested that apoptosis initiates during the early phases of ischemia, but reperfusion is necessary to the completion of the apoptotic cascade [17], culminating in an excess of myocardial injury. To further support this concept, apoptosis inhibition either by pharmacological or genetic approaches resulted in smaller infarctions [22–25]. In a substudy of the F.I.R.E. trial, circulating levels of soluble tumor necrosis factor receptor 1 and 2 were related to infarct size and left ventricle dysfunction, thereby providing additional evidence for the role of apoptosis in STEMI-patients [26].

PostCond had shown to inhibit apoptosis through different signaling pathways in the animal model [27–29]. In a clinical trial, PostCond reduced circulating FasL, a marker of apoptosis, as compared to controls [30]. No further human data are available in this regard.

Tumor necrosis factor (TNF)-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)/APO-2L is a member of the TNF ligand superfamily and its primary role is to induce apoptosis. Binding of TRAIL to TRAIL-receptors 1 (DR4) and 2 (DR5) forms a death-induced signaling complex (DISC) which then activates cell apoptosis [31]. Notwithstanding, higher serum TRAIL activity may have a protective role in cardiovascular disease, as lower levels of circulating TRAIL were related to infarct size and poor outcomes in acute coronary syndrome patients [32, 33], although the mechanism behind these observations is not fully understood. As the relationship between PostCond and levels of serum TRAIL is unknown, we aimed to study the impact of PostCond in soluble TRAIL (sTRAIL) activity of STEMI patients who underwent primary PCI. We hypothesized that PostCond would augment sTRAIL level, which could be correlated to the extent of myocardial infarction and post-STEMI systolic dysfunction.

## Materials and methods

### Studied population

This was an exploratory pre-specified analysis of a randomized clinical trial, full details can be found elsewhere [34]. Briefly 87 STEMI-patients (PostCond = 43, Controls = 44) were randomized to undergo either PostCond or standard angioplasty after systematic manual thrombus aspiration. The PostCond sequence consisted of 4 cycles of 60 s reperfusion followed by 60 s reocclusion at low pressure (6 atm), with either the angioplasty balloon (in case the lesion was predilated) or with the balloon-stent

(in case of direct stenting), whichever came first. Adjunct devices or peri-procedural medication was left at the operator's discretion. Following PCI, patients were admitted in the coronary care unit where evidence based medication was administered accordingly. We found no differences in terms of infarct size (area under curve (AUC) of Troponin T (TnT)—AUCTnT), left ventricle ejection fraction (LVEF) as assessed by echocardiography, or clinical endpoints between study groups. This trial was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and the European Guidelines for Good Clinical Practice and was approved by the Ethics Committee of Porto Hospital Centre (223/11-139-DEFI/209-CES). All patients gave written informed consent.

### Biochemical analysis and measure of LVEF

Blood samples were collected upon admission (before reperfusion), and at 6, 12, 24, 48 and 72 h after PCI. TnT was measured on a third-generation assay in Elecsys Modular Analytics e170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). For the purpose of the sTRAIL activity assessment, blood was collected in vacutainer tubes from a peripheral vein at T0 (upon admission to the cath lab) and at 24 h after PCI. Samples were centrifuged at 4 °C for 15 min at 3500 rpm, serum was stored immediately at –80 °C in multiple aliquots until analyzed. Soluble TRAIL (BioVendor, Brno, Czech Republic) was measured in duplicate by commercially available ELISA kit reading at 450 nm. The lower limit of detection was 5 pg/ml and intra-assay coefficient variation was 6.5 % as informed by the manufacturer. A Laboratory Technician (A.P.) supervised by a Laboratory Medicine Doctor (J.C.O.) executed the laboratory analysis, and were unaware of the study randomization.

The LVEF was determined by 2-dimensional echocardiography (Phillips iE33, Eindhoven, the Netherlands), using the biplane Simpson method on all patients prior to hospital discharge and on scheduled follow-up visits and was calculated, by consensus, by two senior echocardiographers blinded to the study protocol.

### Statistical analysis

Continuous variables with normal distribution are expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD) and were compared by Student's *t* test, continuous variables without normal distribution are expressed by median and interquartile range (IQR) and were compared by the Mann–Whitney *U* test. The AUCTnT activity (arbitrary units) was calculated by the trapezoidal rule, after plotting measures of TnT activity at 6, 12, 24, 48 and 72 h. Linear regression with sTRAIL as independent variable was plotted against AUCTnT and LVEF for each study group. Variables

**Table 1** Baseline features of studied patients

	PosCond (n = 39)	Control (n = 39)	p value
Demographics and risk factors			
Age, mean ± SD	57 ± 13	58 ± 13	0.810
Male, n (%)	34 (87)	31 (80)	0.362
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> ) mean ± SD	27 ± 3	27 ± 4	0.536
Diabetes, n (%)	8 (21)	5 (13)	0.362
Dyslipidemia, n (%)	19 (49)	18 (46)	0.821
Hypertension, n (%)	21 (54)	17 (44)	0.365
Current Smoker, n (%)	23 (59)	26 (67)	0.482
Pre infarct angina, n (%)	16 (41)	14 (37)	0.707
Previous myocardial infarction, n (%)	1 (3)	0	1.000
Creatinine clearance (ml/min) mean ± SD	101 ± 35	98 ± 36	0.732
Killip class, n (%)			
1	35 (90)	35 (90)	1.000
2	4 (10)	4 (10)	
TIMI score, median (IQR)	3 (3)	3 (1)	0.609
Ongoing medication, n (%)			
Aspirin	3 (8)	2 (5)	1.000
Clopidogrel	1 (3)	0	1.000
Beta-blocker	5 (13)	1 (3)	0.200
Statin	6 (15)	10 (26)	0.262
Angiotensin receptor blocker	5 (13)	4 (10)	1.000
ACEi	10 (26)	4 (10)	0.077
Calcium channel blocker	4 (10)	3 (8)	1.000
Nitrates	4 (10)	4 (10)	1.000
Oral antidiabetics	3 (8)	5 (13)	0.711
Insulin	2 (5)	0	0.494

ACEi angiotensin converting enzyme inhibitor, IQR interquartile range, SD standard deviation

(including study arm) related to sTRAIL as dependent variable with  $p < 0.1$  on univariate analysis, entered in a stepwise multivariate linear regression model to identify independent predictors for sTRAIL activity. All analysis was performed with SPSS v.20 (SPSS, Chicago, IL, USA),  $p < 0.05$  was considered significant for all tests.

## Results

From the original 87 patients cohort, 78 had sTRAIL measured at 24 h (39 patients in each group). Of these, sixty-six patients (33 for each group) had LVEF evaluated at follow-up (median: 9 months). Tables 1 and 2 resume the clinical and procedural characteristics for the studied population. Both groups were equally balanced, except for a

trend towards more utilization of the radial approach and stent post-dilation with a non-compliant balloon, both in the control group. Overall clinical risk (TIMI risk score for STEMI [35]), the angiographic area at risk (APPROACH score [36–38]), and the complexity of coronary artery disease (SYNTAX score [39]) were not different. Like in the original cohort, we found no differences in infarct size as expressed by the AUCTnT [median (IQR)]: PostCond = 9.8 (11) vs Control = 8.1 (11),  $p = 0.635$ , or in-hospital LVEF at discharge (PostCond =  $47.0 \pm 7.7\%$  vs Control =  $46.0 \pm 6.8\%$ ,  $p = 0.460$ ). Sixty-one patients (PostCond = 29 Control = 32) had sTRAIL measured upon admission to the cath lab, with no differences between study groups ( $p = 0.308$ ). At 24 h post-reperfusion, the activity of sTRAIL was higher for PostCond as compared to Controls:  $46.4 \pm 30.6$  vs  $32.9 \pm 23.4$  pg/ml,  $p = 0.031$  (Fig. 1). Linear regression (Fig. 2a–f) after dichotomizing for both groups with sTRAIL at 24 h as an independent variable found a negative relationship to AUCTnT for patients submitted to PostCond [ $B = -0.09$ , 95 % CI (-0.15 to -0.30),  $p = 0.005$ ] but not for Controls [ $B = -0.05$ , 95 % CI (-0.18 to -0.07),  $p = 0.385$ ]. Additionally, sTRAIL at 24 h showed a significant positive relationship to in-hospital LVEF for the treatment arm only [PostCon:  $B = 0.10$ , 95 % CI (0.02–0.17),  $p = 0.018$ , Controls:  $B = 0.01$ , 95 % CI (-0.08 to 0.11),  $p = 0.773$ ]. Sixty-six patients (33 for each group) had LVEF evaluated at follow-up. Likewise, activity of sTRAIL was positively related to LVEF at follow-up for PostCon [ $B = 0.21$ , 95 % CI (0.10–0.32),  $p = 0.001$ ] but not for controls [ $B = -0.03$ , 95 % CI (-0.19 to 0.13),  $p = 0.720$ ].

Table 3 shows the univariate and multivariate analysis of variables in relationship to sTRAIL. PostCond remained independently related to higher sTRAIL levels, whereas pre-infarct angina emerged as a significant predictor as well. Conversely, smoking was negatively related to sTRAIL.

## Discussion

The main findings of this exploratory study were: in patients with STEMI who underwent primary PCI, PostCond intervention increased sTRAIL levels at 24 h after reperfusion. In addition, higher levels of this marker were associated with a smaller myocardial infarct size, and a better left ventricle systolic function both in hospital and at follow-up in the PostCond group.

The role of apoptosis in cardiovascular disease has been addressed in pathological studies and in animal experiments [40]. Nevertheless, apoptosis-inducing molecules like TRAIL may confer some benefit in the cardiovascular system, and has been subject of intense investigation. For

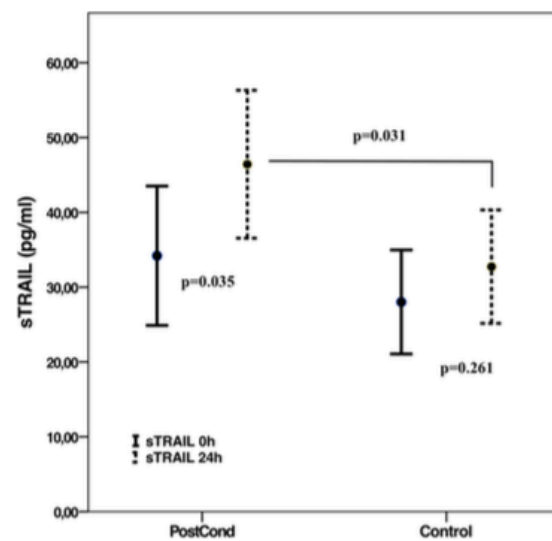


**Table 2** Procedural and angiographic characteristics

	PosCond (n = 39)	Control (n = 39)	p value
Times to reperfusion, min (median[IQR])			
Total ischemic time	200 (130)	215 (120)	0.481
Door-to-balloon	70 (40)	60 (45)	0.563
ECG-to-balloon	65 (70)	75 (41)	0.707
Procedure			
Number of diseased vessels (>50 % stenosis)			
1 (%)	20 (51)	21 (54)	0.872
2 (%)	12 (31)	10 (26)	
3 (%)	7 (18)	8 (21)	
Culprit vessel, n (%)			
LAD	18 (46)	18 (46)	0.393
LCX	8 (21)	4 (10)	
RCA	13 (33)	17 (44)	
Thrombectomy efficiency, n (%)	37 (95)	35 (90)	0.675
Type of stent, n (%)			
DES	25 (64)	28 (72)	0.467
BMS	14 (36)	11 (28)	
Direct stenting, n (%)	30 (77)	28 (72)	0.604
Stent diameter, mm (median [IQR])	3 (0.5)	3 (0.5)	0.596
Total stent length, mm (median [IQR])	22 (12)	23 (16)	0.495
Stent Post-dilation, n (%)	10 (26)	18 (46)	0.059
Radial approach, n (%)	34 (87)	39 (100)	0.055
2b/3a inhibitors, n (%)	12 (30)	9 (23)	0.507
Adenosine, n (%)	1 (3)	2 (5)	1.000
Opiates, n (%)	32 (82)	36 (93)	0.176
Angiographic scores			
SYNTAX score (median [IQR])	17 (10)	17 (7)	0.822
APPROACH score (median [IQR])	28 (8)	28 (8)	0.752

LAD left anterior descending artery, LCX left circumflex artery, RCA right coronary artery, DES drug-eluting stent, BMS bare-metal stent

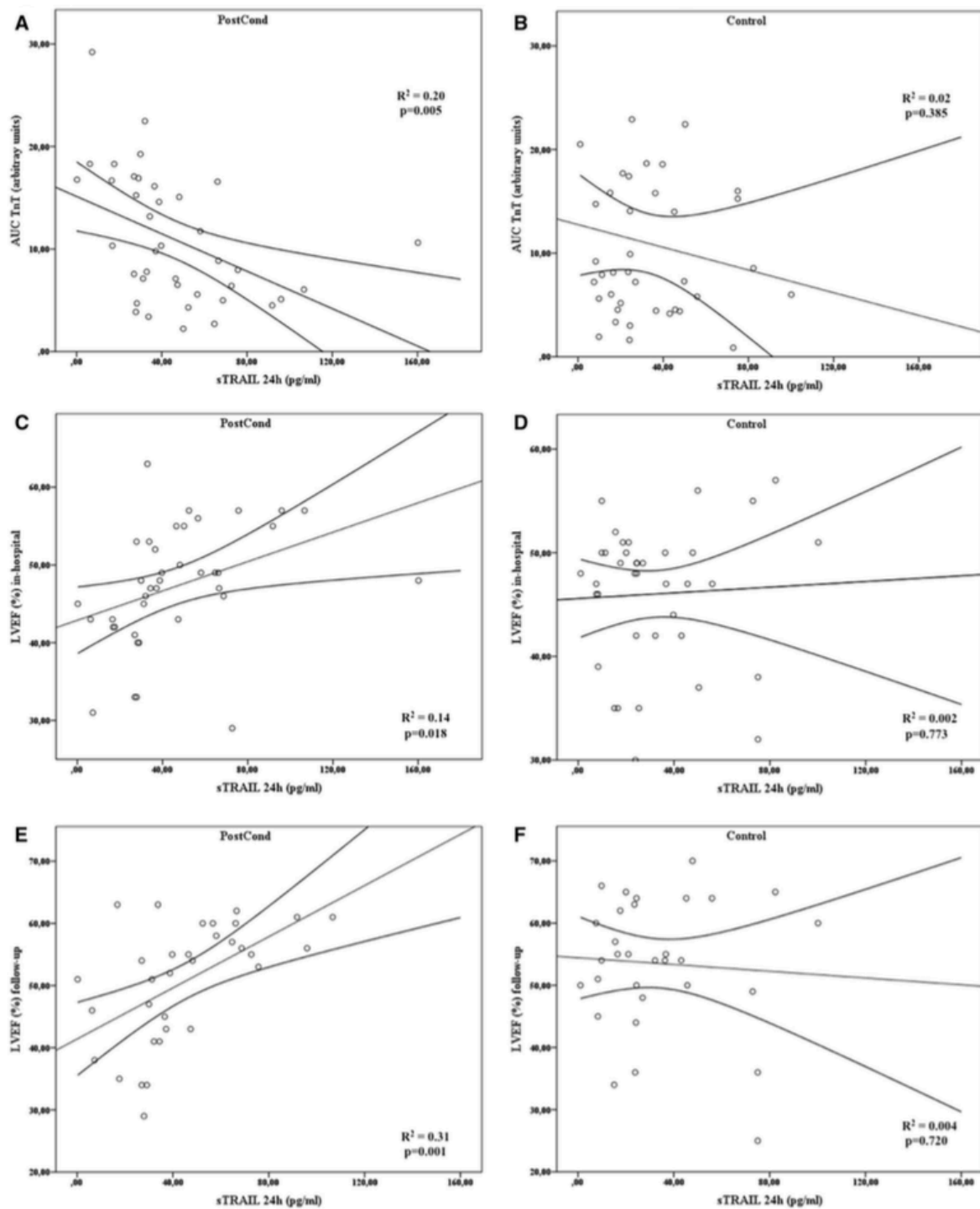
example, in diabetic mice the administration of recombinant TRAIL counteracted the development and extension of atherosclerotic plaques [41], protected against endothelium injury and attenuated glucose-induced endothelial cell apoptosis [42] and reduced myocardial fibrosis and apoptosis [43]. However, TRAIL-related adverse effects were also described. One study had shown that TRAIL at low concentrations induced proliferation of human vascular smooth muscle cells (VSMC) from aortas of patients undergoing cardiac transplantation, whereas apoptosis was observed only after higher concentrations of TRAIL; in addition, TRAIL was expressed on stenotic regions of saphenous vein grafts co-localizing with proliferating VSMC. The authors' main conclusion is that TRAIL may promote atherosclerotic plaque formation due to its anti-apoptotic and pro-survival properties on VSMC [44]. These proliferative



**Fig. 1** Pairwise comparisons between study groups before (sTRAIL 0 h) and after (sTRAIL 24 h) reperfusion. Serum TRAIL activity was higher for PostCond group 24 h after reperfusion as compared to Controls. *PostCond* Postconditioning, *sTRAIL* serum TNF-related apoptosis induced ligand

and presumably pro-atherogenic effects of TRAIL were also observed in another experiment where recombinant TRAIL promoted rat VSMC survival, migration and proliferation, with a lesser effect on inducing apoptosis [45].

In clinical studies, low serum levels of TRAIL were strongly related to adverse prognosis in advanced heart failure [46], were also related to mortality in a large series of adults with established atherosclerotic disease [47], were related to the severity of coronary artery disease [48], to in-stent restenosis [49], and to plaque vulnerability and composition [50]. In the setting of acute coronary syndromes/myocardial infarction [32, 33], lower levels of sTRAIL were related to larger infarcts and worse prognosis. It is not known if lower sTRAIL reflects either a deficit of production or increased consumption. One explanation comes from the observation that following acute myocardial infarction, a number of proteolytic enzymes are released including matrix metalloproteinases, (which have been related to larger infarct sizes and poor outcome), and therefore could promote TRAIL cleavage and clearance. This would abrogate the pro-apoptotic effects on neutrophils, leaving them prone to induce their detrimental activity in the infarct zone [51]. One study involving STEMI-patients, showed that peripheral blood mononuclear cells, specifically CD4+ T cells and CD14+ monocytes increased the expression of TRAIL as compared to healthy controls, whereas TRAIL receptors 1 and 2 were expressed in cardiomyocytes at



**Fig. 2** Relationship between sTRAIL and Troponin-T (a, b), sTRAIL and in-hospital LVEF (c, d), sTRAIL and follow-up (median = 9 months) LVEF (e, f), for both study arms. PostCond was significantly related to reduced infarct size and better LVEF both

in-hospital and at follow-up. *LVEF* left ventricle ejection fraction, *PostCond* Postconditioning, *sTRAIL* serum TNF-related apoptosis induced ligand

**Table 3** Univariate and multivariate analysis (95 % confidence interval) in relationship with sTRAIL

	Univariate	<i>p</i> value	Multivariate	<i>p</i> value
Pre-infarct angina	<i>B</i> = 17.89 (5.30–30.48)	0.006	<i>B</i> = 17.29 (5.32–29.27)	0.005
Smoking	<i>B</i> = −14.93 (−27.68 to −2.17)	0.022	<i>B</i> = −13.54 (−25.74 to −1.36)	0.030
Systolic pressure	<i>B</i> = 0.50 (0.05–0.96)	0.030		
PostCond	<i>B</i> = 13.67 (1.30–26.04)	0.031	<i>B</i> = 12.13 (0.40–23.87)	0.043
Syntax score	<i>B</i> = 1.00 (−0.04 to 2.02)	0.058		

autopsy [52]. The authors suggest that TRAIL induced apoptosis in human cardiomyocytes, and that mononuclear cells serve as mediators of TRAIL in STEMI. In the other hand, others showed that although endothelial cells express TRAIL receptors, the administration of recombinant TRAIL to human umbilical vein endothelial cells in vitro didn't promote apoptosis, but rather modulated the production of NO and prostanoids, which are well known regulators of vascular tone and angiogenesis [53]. Therefore, although apoptosis is the major signaling outcome from the TRAIL death receptors, they can also activate pro-survival pathways that may antagonize apoptosis. Two excellent reviews gather the available evidence on both the presumed detrimental and protective actions that TRAIL may have in the cardiovascular system [54, 55]. Seeming that TRAIL has a dual (apoptotic and pro-survival) activity probably reflecting its homeostatic role, it is largely unknown what are the determinants that promote one effect or the other, especially in the ischemic cardiomyocyte undergoing reperfusion.

To the best of our knowledge, we demonstrated for the first time an association between PostCond and sTRAIL levels in STEMI patients. We hypothesize a causality link based on experimental studies that had shown that PostCond effectively modulates apoptosis in animal reperfusion injury models, and in vitro recombinant TRAIL seems to activate pro-survival pathways. No between-groups baseline differences were found as was expected given the randomization procedure, and PostCond remained as an independent variable to predict higher sTRAIL in the multivariate regression model. Therefore, we believe the observed differences between groups represent that PostCond may stimulate an yet unknown target leading to higher sTRAIL levels post-reperfusion. Although it is exaggerated to assume that PostCond actually induces anti-apoptotic signaling on cardiomyocytes by increasing sTRAIL in humans after reperfusion, we believe this mechanism should be considered in a further experiment.

Consistent with previous studies, we found a negative correlation between sTRAIL and myocardial infarct size, and a positive correlation to LVEF. However, those results were only evident in patients who underwent PostCond. Given the observed relationship between sTRAIL and TnT in this study group, we don't have a simple explanation

why we have failed to show the same kind of benefit (i.e. smaller infarct size) in the primary analysis. Based on observations that declining sTRAIL levels after an acute coronary syndrome are strongly related to worsened prognosis in comparison with troponins, age or ejection fraction [32] one may assume that PostCond may, effectively, act in an important but yet not fully understood pathway that helps to reduce myocardial infarct size. In addition, one may hypothesize that factors that increase sTRAIL levels might be sensitive targets for PostCond, and that a definite correlation between sTRAIL, PostCond and clinical or laboratory endpoints can only be evident in a larger sample and with a longer-term follow-up.

Interestingly, pre-infarct angina (which acts as a pre-conditioning stimulus) was also independently related to sTRAIL activity. Pre-conditioning has long been related to reduced infarct size in STEMI-patients, specially if time to reperfusion is not too long [56]. These results not only reinforce the putative benefit of PostCond, but also support experimental observations that pre and post-conditioning may induce similar signaling that recruit protective pathways to promote cell survival during reperfusion [57]. In the opposite direction, nicotine has been related to the inhibition of survival pathways that protect cardiomyocytes from apoptosis [58], which could explain why active smoking was independently and negatively related to sTRAIL.

### Limitations

Our study has several limitations that should be considered. Although exploratory, the results of our study are limited by the small sample size and should be confirmed in a larger series. Troponin T assessed infarct size, and LVEF was evaluated by echocardiography. Utilization of cardiac magnetic resonance (CMR) imaging would provide a better estimation of infarct size, area at risk and left ventricle function. Nevertheless, the determinants of infarct size and the angiographic area at risk used in our study have been well correlated to CMR. Finally, we did not study clinical outcomes associated to sTRAIL levels. Since previous studies had shown that higher sTRAIL is associated with better prognosis in patients with acute coronary syndrome, a larger sample could give a promising insight to clinical endpoints.



## Conclusion

This substudy of a randomized controlled trial showed that PostCond increased the post-reperfusion sTRAIL levels. Also, higher sTRAIL levels correlated with reduced infarct size and better left ventricle systolic function in patients submitted to a PostCond maneuver during PCI. These results may suggest that PostCond influences a yet unknown target leading to increasing sTRAIL. Further studies are needed to understand if this mechanism limits the RI phenomenon and if it translates into a meaningful reduction of infarct size.

**Acknowledgments** We thank all the medical, technical and nursing staff belonging to the Cardiology and Laboratory departments for their support.

## Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors have no conflicts of interest to disclose regarding this paper.

**Funding** This work was funded by Porto Hospital Centre and by Medtronic Portugal.

## References

1. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blomstrom-Lundqvist C, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH, Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K, Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, van 't Hof A, Widimsky P, Zahger D (2012) ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 33:2569–2619
2. Pedersen F, Butrymovich V, Kelbæk H, Wachtell K, Helqvist S, Kastrup J, Holmvang L, Clemmensen P, Engstrøm T, Grande P, Saunamäki K, Jørgensen E (2014) Short- and long-term cause of death in patients treated with primary PCI for STEMI. *J Am Coll Cardiol* 64:2101–2108
3. Miyachi H, Takagi A, Miyauchi K, Yamasaki M, Tanaka H, Yoshikawa M, Saji M, Suzuki M, Yamamoto T, Shimizu W, Nagao K, Takayama M (2016) Current characteristics and management of ST elevation and non-ST elevation myocardial infarction in the Tokyo metropolitan area: from the Tokyo CCU network registered cohort. *Heart Vessels*. doi:10.1007/s00380-015-0791-9
4. Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B (2009) Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the “dark side” of reperfusion. *Circulation* 120:2105–2112
5. Braunwald E, Kloner RA (1985) Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J Clin Invest* 76:1713–1719
6. Yellon DM, Hausenloy DJ (2007) Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 357:1121–1135
7. Jennings RB (2013) Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ Res* 113:428–438
8. Kloner RA (2013) Current state of clinical translation of cardioprotective agents for acute myocardial infarction. *Circ Res* 113:451–463
9. Ndrepepa G (2015) Improving myocardial injury, infarct size, and myocardial salvage in the era of primary PCI for STEMI. *Coron Artery Dis* 26:341–355
10. Zhao ZQ, Corvera JS, Halkos ME, Kerendi F, Wang NP, Guyton RA, Vinten-Johansen J (2003) Inhibition of myocardial injury by ischemic postconditioning during reperfusion: comparison with ischemic preconditioning. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 285:H579–H588
11. Khan AR, Binabdhulhak AA, Alastal Y, Khan S, Faricy-Beredo BM, Luni FK, Lee WM, Khuder S, Tinkel J (2014) Cardioprotective role of ischemic postconditioning in acute myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis. *Am Heart J* 168(512–521):e514
12. Favaretto E, Roffi M, Frigo AC, Lee MS, Marra MP, Napodano M, Tarantini G (2014) Meta-analysis of randomized trials of postconditioning in ST-elevation myocardial infarction. *Am J Cardiol* 114:946–952
13. Limalanathan S, Andersen GO, Klow NE, Abdelnoor M, Hoffmann P, Eritsland J (2014) Effect of ischemic postconditioning on infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction treated by primary PCI results of the POSTEMI (POSTconditioning in ST-Elevation Myocardial Infarction) randomized trial. *J Am Heart Assoc* 3:e000679
14. Eefting F, Rensing B, Wigman J, Pannekoek WJ, Liu WM, Cramer MJ, Lips DJ, Doevendans PA (2004) Role of apoptosis in reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 61:414–426
15. Gottlieb RA, Bursleson KO, Kloner RA, Babior BM, Engler RL (1994) Reperfusion injury induces apoptosis in rabbit cardiomyocytes. *J Clin Invest* 94:1621–1628
16. Badalzadeh R, Mokhtari B, Yavari R (2015) Contribution of apoptosis in myocardial reperfusion injury and loss of cardioprotection in diabetes mellitus. *J Physiol Sci* 65:201–215
17. Freude B, Masters TN, Robicsek F, Fokin A, Kostin S, Zimmermann R, Ullmann C, Lorenz-Meyer S, Schaper J (2000) Apoptosis is initiated by myocardial ischemia and executed during reperfusion. *J Mol Cell Cardiol* 32:197–208
18. Sasaki T, Shishido T, Kadowaki S, Kitahara T, Suzuki S, Katoh S, Funayama A, Netsu S, Watanabe T, Goto K, Takeishi Y, Kubota I (2014) Diacylglycerol kinase alpha exacerbates cardiac injury after ischemia/reperfusion. *Heart Vessels* 29:110–118
19. McCully JD, Wakiyama H, Hsieh YJ, Jones M, Levitsky S (2004) Differential contribution of necrosis and apoptosis in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 286:H1923–H1935
20. Saraste A, Pulkki K, Kallajoki M, Henriksen K, Parvinen M, Voipio-Pulkki L-M (1997) Apoptosis in human acute myocardial infarction. *Circulation* 95:320–323
21. Biondi-Zoccai GG, Abbate A, Vasaturo F, Scarpa S, Santini D, Leone AM, Parisi Q, De Giorgio F, Bussani R, Silvestri F, Baldi F, Biasucci LM, Baldi A (2004) Increased apoptosis in remote non-infarcted myocardium in multivessel coronary disease. *Int J Cardiol* 94:105–110
22. Chen Z, Chua CC, Ho YS, Hamdy RC, Chua BH (2001) Overexpression of Bcl-2 attenuates apoptosis and protects against myocardial I/R injury in transgenic mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 280:H2313–H2320
23. Rong F, Peng Z, Ye MX, Zhang QY, Zhao Y, Zhang SM, Guo HT, Hui B, Wang YM, Liang C, Gu CH, Tao C, Cui Q, Yu SQ, Yi DH, Pei JM (2009) Myocardial apoptosis and infarction after ischemia/reperfusion are attenuated by kappa-opioid receptor agonist. *Arch Med Res* 40:227–234
24. Lee P, Sata M, Lefter DJ, Factor SM, Walsh K, Kitsis RN (2003) Fas pathway is a critical mediator of cardiac myocyte death and MI during ischemia-reperfusion in vivo. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 284:H456–H463
25. Senturk T, Cavun S, Avci B, Yermezler A, Serdar Z, Savci V (2014) Effective inhibition of cardiomyocyte apoptosis through the combination of trimetazidine and N-acetylcysteine in a rat

- model of myocardial ischemia and reperfusion injury. *Atherosclerosis* 237:760–766
26. Nilsson L, Szymanski A, Swahn E, Jonasson L (2013) Soluble TNF receptors are associated with infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction. *PLoS One* 8:e55477
  27. Gan R, Hu G, Zhao Y, Li H, Jin Z, Ren H, Dong S, Zhong X, Li H, Yang B, Xu C, Lu F, Zhang W (2012) Post-conditioning protecting rat cardiomyocytes from apoptosis via attenuating calcium-sensing receptor-induced endo(sarco)plasmic reticulum stress. *Mol Cell Biochem* 361:123–134
  28. Wagner C, Tillack D, Simonis G, Strasser RH, Weinbrenner C (2010) Ischemic post-conditioning reduces infarct size of the in vivo rat heart: role of PI3-K, mTOR, GSK-3beta, and apoptosis. *Mol Cell Biochem* 339:135–147
  29. Ren Y, Cai Y, Jia D (2012) Comparative antiapoptotic effects of KB-R7943 and ischemic postconditioning during myocardial ischemia reperfusion. *Cell Biochem Biophys* 64:137–145
  30. Zhao WS, Xu L, Wang LF, Zhang L, Zhang ZY, Liu Y, Liu XL, Yang XC, Cui L, Zhang L (2009) A 60-s postconditioning protocol by percutaneous coronary intervention inhibits myocardial apoptosis in patients with acute myocardial infarction. *Apoptosis* 14:1204–1211
  31. Kimberley FC, Srean GR (2004) Following a TRAIL: update on a ligand and its five receptors. *Cell Res* 14:359–372
  32. Secchiero P, Corallini F, Ceconi C, Parrinello G, Volpato S, Ferrari R, Zauli G (2009) Potential prognostic significance of decreased serum levels of TRAIL after acute myocardial infarction. *PLoS One* 4:e4442
  33. Osmancik P, Teringova E, Tousek P, Paulu P, Widimsky P (2013) Prognostic value of TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in acute coronary syndrome patients. *PLoS One* 8:e53860
  34. Luz A, Santos M, Magalhaes R, Silveira J, Cabral S, Dias V, Oliveira F, Pereira S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S (2015) Lack of benefit of ischemic PostConditioning after routine thrombus aspiration during reperfusion: immediate and mid-term results. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 20:523–531
  35. Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, Cairns R, Murphy SA, de Lemos JA, Giugliano RP, McCabe CH, Braunwald E (2000) TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: a convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: An intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy. *Circulation* 102:2031–2037
  36. Brandt PW, Partridge JB, Wattie WJ (1977) Coronary arteriography; method of presentation of the arteriogram report and a scoring system. *Clin Radiol* 28:361–365
  37. Graham MM, Faris PD, Ghali WA, Galbraith PD, Norris CM, Badry JT, Mitchell LB, Curtis MJ, Knudtson ML (2001) Validation of three myocardial jeopardy scores in a population-based cardiac catheterization cohort. *Am Heart J* 142:254–261
  38. Ortiz-Perez JT, Meyers SN, Lee DC, Kansal P, Klocke FJ, Holly TA, Davidson CJ, Bonow RO, Wu E (2007) Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 28:1750–1758
  39. Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, Morice MC, Colombo A, Dawkins K, van den Brand M, Van Dyck N, Russell ME, Mohr FW, Serruys PW (2005) The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention* 1:219–227
  40. Lee Y, Gustafsson AB (2009) Role of apoptosis in cardiovascular disease. *Apoptosis* 14:536–548
  41. Secchiero P, Candido R, Corallini F, Zacchigna S, Toffoli B, Rimondi E, Fabris B, Giacca M, Zauli G (2006) Systemic tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand delivery shows antiatherosclerotic activity in apolipoprotein E-null diabetic mice. *Circulation* 114:1522–1530
  42. Liu M, Xiang G, Lu J, Xiang L, Dong J, Mei W (2014) TRAIL protects against endothelium injury in diabetes via Akt-eNOS signaling. *Atherosclerosis* 237:718–724
  43. Toffoli B, Bernardi S, Candido R, Zacchigna S, Fabris B, Secchiero P (2012) TRAIL shows potential cardioprotective activity. *Invest New Drugs* 30:1257–1260
  44. Kavurma MM, Schoppet M, Bobryshev YV, Khachigian LM, Bennett MR (2008) TRAIL stimulates proliferation of vascular smooth muscle cells via activation of NF-kappaB and induction of insulin-like growth factor-1 receptor. *J Biol Chem* 283:7754–7762
  45. Secchiero P, Zerbinati C, Rimondi E, Corallini F, Milani D, Grill V, Forti G, Capitani S, Zauli G (2004) TRAIL promotes the survival, migration and proliferation of vascular smooth muscle cells. *Cell Mol Life Sci* 61:1965–1974
  46. Richter B, Koller L, Hohensinner PJ, Zorn G, Brekal M, Berger R, Mortl D, Maurer G, Pacher R, Huber K, Wojta J, Hulsmann M, Niessner A (2013) A multi-biomarker risk score improves prediction of long-term mortality in patients with advanced heart failure. *Int J Cardiol* 168:1251–1257
  47. Volpato S, Ferrucci L, Secchiero P, Corallini F, Zuliani G, Fellin R, Guralnik JM, Bandinelli S, Zauli G (2011) Association of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand with total and cardiovascular mortality in older adults. *Atherosclerosis* 215:452–458
  48. Mori K, Ikari Y, Jono S, Shioi A, Ishimura E, Emoto M, Inaba M, Hara K, Nishizawa Y (2010) Association of serum TRAIL level with coronary artery disease. *Thromb Res* 125:322–325
  49. Deftereos S, Giannopoulos G, Panagopoulou V, Raisakis K, Kossyvakis C, Kaoukis A, Tzalamouras V, Mavri M, Pyrgakis V, Cleman MW, Stefanadis C (2012) Inverse association of coronary soluble tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand (sTRAIL) levels to in-stent neointimal hyperplasia. *Cardiology* 123:97–102
  50. Deftereos S, Giannopoulos G, Kossyvakis C, Kaoukis A, Raisakis K, Panagopoulou V, Miliou A, Theodorakis A, Driva M, Pyrgakis V, Stefanadis C, Cleman MW (2012) Association of soluble tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand levels with coronary plaque burden and composition. *Heart* 98:214–218
  51. Secchiero P, Gonelli A, Corallini F, Ceconi C, Ferrari R, Zauli G (2010) Metalloproteinase 2 cleaves in vitro recombinant TRAIL: potential implications for the decreased serum levels of TRAIL after acute myocardial infarction. *Atherosclerosis* 211:333–336
  52. Nakajima H, Yanase N, Oshima K, Sasame A, Hara T, Fukazawa S, Takata R, Hata K, Mukai K, Yamashina A, Mizuguchi J (2003) Enhanced expression of the apoptosis inducing ligand TRAIL in mononuclear cells after myocardial infarction. *Jpn Heart J* 44:833–844
  53. Zauli G, Pandolfi A, Gonelli A, Di Pietro R, Guarnieri S, Ciabattini G, Rana R, Vitale M, Secchiero P (2003) Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) sequentially upregulates nitric oxide and prostanoid production in primary human endothelial cells. *Circ Res* 92:732–740
  54. Cheng W, Zhao Y, Wang S, Jiang F (2014) Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand in vascular inflammation and atherosclerosis: a protector or culprit? *Vascul Pharmacol* 63:135–144
  55. Forde H, Harper E, Davenport C, Rochfort KD, Wallace R, Murphy RP, Smith D, Cummins PM (2016) The beneficial pleiotropic effects of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) within the vasculature: a review of the evidence. *Atherosclerosis* 247:87–96

56. Luz A, Santos M, Rodrigues P, Sousa MJ, Anjo D, Silveira I, Brochado B, Silveira J, Cabral S, Leite-Moreira A, Carvalho H, Torres S (2015) Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Coron Artery Dis* 26:22–29
57. Hausenloy DJ, Yellon DM (2007) Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Pharmacol Ther* 116:173–191
58. Wang L, Li X, Zhou Y, Shi H, Xu C, He H, Wang S, Xiong X, Zhang Y, Du Z, Zhang R, Lu Y, Yang B, Shan H (2014) Down-regulation of miR-133 via MAPK/ERK signaling pathway involved in nicotine-induced cardiomyocyte apoptosis. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 387:197–206


**5. Manual Thrombectomy Efficiency in Relationship to the Area at Risk in Patients with Myocardial Infarction with TIMI 0-1 coronary flow. Insights from an all comers registry.**

Luz A, Silveira I, Brochado B, Rodrigues P, Sousa MJ, Santos R, Trêpa M, Santos M, Silveira J, Torres S, Leite-Moreira AF, Carvalho H. *Cath Cardiovasc Interv.* Feb 13. doi: 10.1002/ccd.26959. [Epub ahead of print].



## Original Studies

# Manual Thrombectomy Efficiency in Relationship to the Area at Risk in Patients With Myocardial Infarction With TIMI 0-1 Coronary Flow: Insights From an All Comers Registry

André Luz,<sup>1\*</sup> MD, Inês Silveira,<sup>1</sup> MD, Bruno Brochado,<sup>1</sup> MD , Patrícia Rodrigues,<sup>1</sup> MD, Maria João Sousa,<sup>1</sup> MD, Raquel Santos,<sup>1</sup> MD, Maria Trêpa,<sup>1</sup> MD, Mário Santos,<sup>1,3</sup> MD, PhD, João Silveira,<sup>1,2</sup> MD, Severo Torres,<sup>1,2</sup> MD, Adelino F. Leite-Moreira,<sup>3</sup> MD, PhD, and Henrique Carvalho,<sup>1,2</sup> MD, PhD

**Objectives:** To review the effectiveness of manual thrombectomy (MT) in a series of patients with ST-elevation myocardial infarction (STEMI) exclusively presenting with TIMI 0-1 flow undergoing percutaneous coronary intervention (PCI), in accordance to the angiographically estimated area at risk (AAR). Second, to assess major in-hospital clinical events, emphasizing neurological outcomes. **Background:** The routine utilization of MT in STEMI is not recommended. However, in recent trials, a significant proportion of patients had neither large thrombus burden nor a totally occluded coronary segment, neutralizing the expected benefits of MT. In addition, the efficiency of MT to remove thrombus has rarely been addressed. Finally, MT diminished distal embolization, which has been related to mortality. **Results:** In 850 consecutive STEMI-patients, MT was utilized in 525 (62%) and it was considered efficient (TIMI 2-3 flow after MT) in 445 (85%). We found a significant interaction between the AAR and the effectiveness of MT to reduce infarct size ( $P$ -interaction = 0.014). In patients having AAR  $\geq 28\%$  ( $n = 184$ ), efficient MT conferred lesser infarct size compared to inefficient MT (Ln-transformed peak CK):  $7.87 \pm 0.86$  versus  $8.36 \pm 0.41$  IU/L,  $P = 0.005$ , with no impact for AAR  $< 28\%$ . Clinical outcomes including stroke between MT and PCI-only groups were not different. **Conclusion:** In comparison with the group where MT was inefficient, efficient MT may modestly reduce final infarct size without a significant clinical benefit. In comparison with PCI-only, no difference was found regarding stroke. © 2017 Wiley Periodicals, Inc.

**Key words:** manual thrombectomy, area at risk; ST-elevation myocardial infarction

## INTRODUCTION

Manual thrombectomy (MT) during primary percutaneous intervention (PCI) for ST-elevation myocardial infarction (STEMI) is an empirical, easy to use

technique that aims to reduce distal thrombus embolization and to promote myocardial salvage. As initial trials and registries showed benefits not only in limiting infarct size but also in terms of reduced

<sup>1</sup>Cardiology Department, Centro Hospitalar do Porto, Porto, Portugal

<sup>2</sup>Institute of Biomedical Sciences of "Abel Salazar", University of Porto, Portugal

<sup>3</sup>Department of Physiology and Cardiothoracic Surgery, Faculty of Medicine, University of Porto, Portugal

Conflict of interest: Nothing to report.

\*Correspondence to: André Luz, Address: Centro Hospitalar do Porto, Portugal, Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001.

E-mail: andrecoimbraluz@hotmail.com

Received 26 May 2016; Revision accepted 25 December 2016

DOI: 10.1002/ccd.26959

Published online 00 Month 2017 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com)

## 2 Luz et al.

cardiovascular events [1–3], operators adopted MT in the armamentarium of primary PCI. Nevertheless, two recent large clinical trials [4,5] and a meta-analysis [6] showed no benefits in the routine utilization of MT as compared to PCI only, whereas concerns of a higher cumulative rate of stroke have been raised. Therefore, routine thrombus aspiration during reperfusion was downgraded to a class III indication in an updated report from the ACC/AHA/SCAI organizations [7].

Although the subgroup analysis in the latest large randomized trial did not show any benefit of MT [5,8], it should be noted that TIMI 0 flow in the MT group was 66.3%, (82% in a large retrospective series [9]), whereas in around 10% of patients the thrombus was either small or absent [5]. This may suggest that a significant proportion of patients may have had small or no benefit from MT. Furthermore, thrombectomy at first attempt was unsuccessful in nearly 15% of cases, needing balloon predilation to allow passage of the device which may have led to thrombus migration, mitigating the putative benefit of thrombus removal. In addition, although a recent meta-analysis comprising a large series of patients failed to show a clinical benefit from routine thrombus aspiration, it was also recognized that data is lacking for selective cases with large thrombus [10].

In real-life practice, many operators may be reluctant to use MT in cases of unfavorable anatomy or with small thrombotic burden. Hence, by evaluating the efficiency of thrombus aspiration if the artery was totally occluded (and performed voluntarily rather than being mandated by a study protocol), one could have another insight for the importance of thrombus aspiration in reducing distal embolization and hence to limit infarct size. Hypothesizing that patients presenting with a total occluded artery and a larger area at risk (AAR) may still benefit from thrombectomy, our main objective was to study the interaction between the efficiency of manual thrombus aspiration and the AAR in a consecutive series of STEMI-patients presenting with TIMI 0-1 flow undergoing primary PCI. Second, to compare left ventricle (LV) dysfunction before discharge between MT-groups, and to report the in-hospital rate of major adverse cardiac and cerebrovascular events (MACCE), including all neurological outcomes between MT versus PCI-only groups.

## METHODS

### Studied Population and Definitions

Clinical and procedural characteristics from STEMI-patients presenting to our center are collected and entered in a prospective electronic database. For the current analysis, we considered those who underwent

primary PCI (symptoms onset to reperfusion < 24 hr) from January 2008 to February 2016. A STEMI diagnosis is made in case of chest pain accompanied by persistent ST-segment elevation in two or more contiguous leads in a 12-lead electrocardiogram (ECG) as described elsewhere [11]. Two senior interventional cardiologists carefully reviewed coronary angiograms for procedural related characteristics; in case of disagreement, a third interventional cardiologist was consulted.

MT was considered efficient if a coronary TIMI flow 2–3 was observed after its use, otherwise it was considered to be inefficient. We also considered it as inefficient if it failed to reach the occluded segment. Total ischemic time (TIT), door-to-balloon, and ECG-to-balloon times were determined as the duration from the time where chest pain became more intense and sustained, hospital admittance, and diagnostic ECG, respectively, to the passage of the coronary occlusion with the guidewire (this moment is depicted on all angiograms). The SYNTAX score version 2.11 was calculated by scoring all coronary lesions with a diameter stenosis of more than 50% in vessels more than 1.5 mm. The infarct-related artery was scored as an occlusion of less than 3 months' duration. The TIMI score for STEMI was calculated for every patient on arrival by the attending cardiologist, and the myocardium AAR was estimated by the angiographic modified Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Diseases (APPROACH) score. In brief, this score estimates the percentage of the myocardium that is perfused by each segment of the three major epicardial vessels, in accordance to the anatomical dominance and size of side branches. This score has been well correlated with the AAR as estimated by cardiac magnetic resonance (CMR) imaging [12,13].

### Primary PCI, Infarct Size and In-hospital Left Ventricle Dysfunction

On admission to the emergency room, patients were loaded with 300 mg aspirin and 600 mg clopidogrel or 180 mg ticagrelor except if they were already on these medications. PCI was performed by either the radial or femoral approach, mostly 6-French. Following angiographic assessment, 70 U/Kg unfractionated heparin was given by a peripheral vein. Thrombectomy was exclusively performed by the 6-French Export Catheter (Medtronic, Minneapolis, Minnesota) in a coronary segment with TIMI 0–1 flow, adjunct medication or devices were left at the operators' discretion. After one or more passages of the thrombectomy device through the occlusion, it was carefully removed from the coronary artery maintaining negative suction, keeping the guiding catheter as stable as possible and inside the

TABLE I. Clinical Characteristics of Studied Population

	Thrombectomy			P-value <sup>a</sup>	P-value <sup>b</sup>
	Effective (n = 445)	Ineffective (n = 80)	PCI-only (n = 325)		
Age, mean ± SD	60.8 ± 13.1	64.5 ± 12.3	67.8 ± 13.5	0.015	<0.001
Male, (%)	343(77)	63(79)	223(69)	0.742	0.003
BMI (Kg/m <sup>2</sup> ), mean ± SD	26.4 ± 4.0	26.6 ± 3.9	26.1 ± 3.6	0.682	0.163
Diabetes, n(%)	102(23)	17(21)	85(27)	0.735	0.117
Dyslipidemia, n(%)	251(56)	39(49)	199(59)	0.238	0.333
Hypertension, n(%)	249(56)	37(46)	183(58)	0.104	0.428
Current smoker, n(%)	262(59)	37(46)	152(47)	0.036	0.113
Pre-infarct angina, n(%)	145(32)	24(30)	105(33)	0.973	0.885
Previous MI, n(%)	34(8)	4(5)	32(10)	0.399	0.143
Previous CABG, n(%)	4(0.9)	2(2.5)	5(1.6)	0.215	0.570
Creat. Clearance, ml/min, median (IQR)	88(46)	79(55)	82(54)	0.135	0.100
Killip Class, n(%)				0.021	0.286
1–2	404(91)	66(82)	276(87)		
3–4	40(9)	14(18)	40(13)		
TIMI score, median (IQR)	3(3)	4(4)	3(3)	0.100	0.157
SAP, mm Hg (mean ± SD)	121 ± 25	117 ± 26	122 ± 25	0.227	0.264
Ongoing medication, n(%)					
Aspirin	53(12)	13(16)	57(18)	0.317	0.081
Clopidogrel	16(4)	3(4)	16(5)	1.000	0.272
Beta-blocker	55(12)	10(13)	44(14)	0.950	0.494
ACEI/ARA	144(33)	20(25)	109(35)	0.179	0.322
Calcium channel blocker	31(7)	8(10)	35(10)	0.350	0.098
Statin	107(24)	19(24)	75(24)	0.961	0.950
Nitrates	17(4)	8(9)	13(4)	0.044	0.574
Oral anti-diabetics	66(15)	10(13)	50(15)	0.565	0.111
Insulin	13(3)	1(1.3)	14(4)	0.388	0.090

<sup>a</sup>P-value between thrombectomy groups.

<sup>b</sup>P-value between thrombectomy groups versus PCI-only.

Abbreviations: ACEI: angiotensin-converting enzyme inhibitor; ARA: angiotensin-II receptor antagonist; BMI: body mass index; CABG: coronary artery by-pass graft; MI: myocardial infarction; SAP: systolic arterial pressure; TIMI: thrombolysis in myocardial infarction.

coronary artery. After completion of PCI, patients were admitted to the coronary care unit where evidence-based medications were administered accordingly. By institution's protocol, blood was drawn for analysis on admission and at 6, 12, 24, 48, and 72 hr post-reperfusion as well as whenever necessary.

The infarct size was estimated by the peak Creatine Kinase (CK), which was measured on a Roche Cobas 8000 analyser (c701 module; Roche Diagnostics), and by peak Troponin-T which was measured on a third-generation Elecsys Modular Analytics e170 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

Left ventricle ejection fraction (LVEF) was determined by 2-dimensional echocardiography (Phillips iE33, Eindhoven, the Netherlands), using the biplane Simpson method and was validated by a senior echocardiographers. Normal resting LVEF was considered for values of at least 55%, mild impairment for values ranging from 45 to 55%, moderate impairment for values ranging from 30 to 45%, and severe impairment for values less than 30%.

### In-hospital MACCE

Any in-hospital death was considered from cardiovascular causes unless other cause was identified. Recurrent myocardial infarction (Re-MI) was considered if the patient had recurrent symptoms with new ECG changes or a secondary rise in myocardial enzymes was documented. In this scenario, patients underwent angiography. Re-MI was diagnostic by documenting coronary thrombus in the infarct-related treated segment. Stroke was defined by a transient or permanent neurologic deficit recognized by a cardiologist, then validated by a neurologist and confirmed by brain imaging. All neurological events (including brain anoxia) from the entire cohort were also evaluated.

### Statistical Analysis

Continuous normally distributed data are expressed by mean ± standard deviation (SD) and compared using Student's *t* test, while non-normally distributed data are expressed by medians and interquartile range



## 4 Luz et al.

TABLE II. Procedural and Angiographic Features

	Thrombectomy			P-value <sup>a</sup>	P-value <sup>b</sup>
	Effective (n = 445)	Ineffective (n = 80)	PCI-only (n = 325)		
Time to reperfusion (min)					
TIT, median (IQR)	210(210)	330(335)	270(354)	<0.001	0.004
DTB, median (IQR)	73(70)	85(85)	90(120)	0.238	<0.001
P2Y inhibitor loading, n(%)				0.351	0.101
Clopidogrel	439(99)	78(98)	312(96)		
Ticagrelor	6(1)	2(2)	13(4)		
Nr diseased vessels, n (IQR)	2(1)	2(2)	2(2)	0.865	0.989
Culprit vessel, n(%)				0.437	<0.001
Left anterior descending	188(42)	36(45)	127(39)		
Left circumflex	56(13)	8(10)	56(17)		
Right coronary artery	200(45)	35(44)	130(40)		
Left main	0(0)	2(2)	7(2.2)		
By-pass graft	2(0.2)	1(1.3)	3(0.9)		
Type of stent, n(%)				<0.001	<0.001
DES	269(60)	38(48)	209(64)		
BMS	159(36)	31(39)	74(23)		
POBA	1(0.2)	5(6)	6(2)		
None	16(4)	6(8)	36(11)		
Nr of stents implanted, median (IQR)	1(0)	1(0)	1(0)	0.333	0.627
Radial approach, n(%)	259(58)	56(71)	226(70)	0.036	0.002
2b/3a inhibitors, n(%)	142(32)	28(35)	38(12)	0.554	<0.001
IABP insertion, n(%)	9(2)	4(5)	7(2)	0.121	0.579
No-reflow, n(%)	8(2)	29(37)	30(9)	<0.001	0.246
Angiographic scores, median (IQR)					
APPROACH, median (IQR)	28(12)	28(9)	20(12)	0.407	<0.001
SYNTAX, median (IQR)	17(10)	20(16)	17(14)	0.020	0.463
Length of stay (days) median (IQR)	6(3)	7(5)	6(3)	<0.001	0.390

<sup>a</sup>P-value between thrombectomy groups.

<sup>b</sup>P-value between thrombectomy groups versus PCI-only.

Abbreviations: APPROACH: Alberta Provincial Project for Outcome Assessment in Coronary Heart Diseases; BMS: bare-metal stent; DES: drug-eluting stent; DTB: door-to-balloon; IABP: intra-aortic balloon pump; IQR: interquartile range; POBA: plain old balloon angioplasty; SYNTAX: Synergy between PCI with TAXUS drug-eluting stent and cardiac surgery; TIT: total ischemic time.

(IQR) and compared using Mann-Whitney *U* test. Categorical variables are expressed by percentages and compared using chi-square or Fisher exact test. Peak CK and TnT were logarithmic transformed (Ln) for parametric comparisons. Linear regression was generated to compare the infarct size in accordance to the AAR, MT effectiveness (effective vs. non effective) was entered as covariate and an interaction test was performed in a general linear model. Both demographic (Table I) and procedural (Table II) variables which were related to higher peak CK with *P*-value < 0.1 in the univariate analysis, entered a stepwise multivariable linear regression equation. To identify the predictors of in-hospital moderate to severe LV dysfunction, we ran a stepwise multivariable logistic regression that included gender, and those demographic and procedural variables with a *P*-value < 0.1 in the univariate analysis. A *P*-value < 0.05 two-sided was considered significant for all tests, SPSS v.23 (SPSS, Chicago, IL) was used for all computations.

Catheterization and Cardiovascular Interventions DOI 10.1002/ccd.

Published on behalf of The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions (SCAI).

## RESULTS

From a consecutive series of 891 patients, 850 had all the information needed and were considered for the analysis. A total of 525 (62%) patients underwent MT, 325 (38%) were submitted to PCI-only. Only in five cases MT was incapable to cross the lesion due to proximal tortuosity, and it was considered ineffective. Tables I and II resume the clinical and procedural characteristics of our cohort. Patients in whom MT was considered effective (*n* = 445, 85%) were younger, were more often smokers, had less severe heart failure on admission, had less time to reperfusion and their coronary anatomy was less severe (Syntax score) as compared to the group in whom the aspiration was ineffective. The angiographic no-reflow at the ending of the procedure (TIMI < 2 flow in the absence of dissection or epicardial coronary thrombus or TIMI ≥ 2 but with contrast stagnated in the microvasculature) was higher in the ineffective group. The group in whom MT was not used (PCI-only), was also

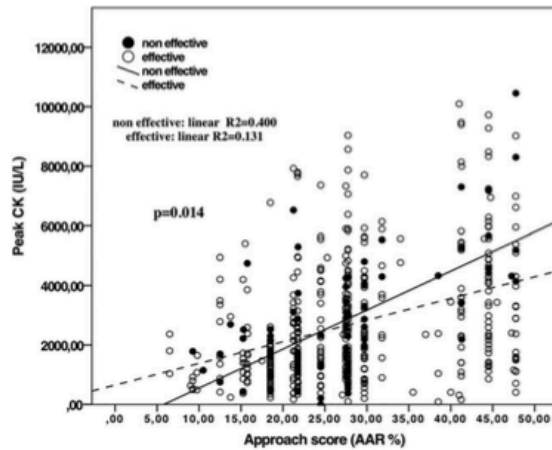


Fig. 1. Estimated infarct size in relationship to the efficiency of manual thrombus aspiration (MT). A significant interaction was found between the aspiration efficiency and the angiographically estimated area at risk (AAR), with patients presenting with large AAR benefiting most from MT if effective.

characterized. In contrast to the MT-groups, PCI-only patients were older, had more females, the area at risk was smaller and the left anterior descending artery was less often the culprit vessel. In addition, 2b/3a inhibitors were used less often, times to reperfusion were longer, and in a significant proportion (11%), no stent was implanted.

Figure 1 shows the relationship between the AAR and the observed peak CK in accordance to the effectiveness of MT. We found a significant interaction between the AAR and thrombectomy ( $P$ -interaction = 0.014), with the lines intersecting around an AAR above 25% in the jeopardy score. We found that after 28%, peak CK was different according to MT effectiveness. For patients having an AAR <28% ( $n = 341$ ), both peak CK and peak TnT were not different with respect to MT effectiveness, whereas for those with an AAR  $\geq 28\%$  ( $n = 184$ ), MT conferred lesser infarct size if it was effective: for peak Ln(CK)  $7.87 \pm 0.86$  versus  $8.36 \pm 0.41$  IU/L,  $P = 0.005$ , for peak Ln(TnT)  $1.86 \pm 1.07$  versus  $2.34 \pm 0.55$ ,  $P = 0.030$  (Fig. 2A and 2B). Table III shows both the univariate and multivariable analysis for the group with the higher AAR. In this subgroup, MT effectiveness and the AAR were independently related to infarct size as estimated by peak CK.

Eight hundred and ten patients (95% of all cohort) underwent echocardiographic evaluation (median = 3 days after PCI). Moderate to severe in-hospital LV dysfunction was more prevalent in the MT-ineffective group (Table IV). By univariate analysis, the efficiency of MT was found to protect from moderate to severe

## Manual Thrombectomy and Area at Risk 5

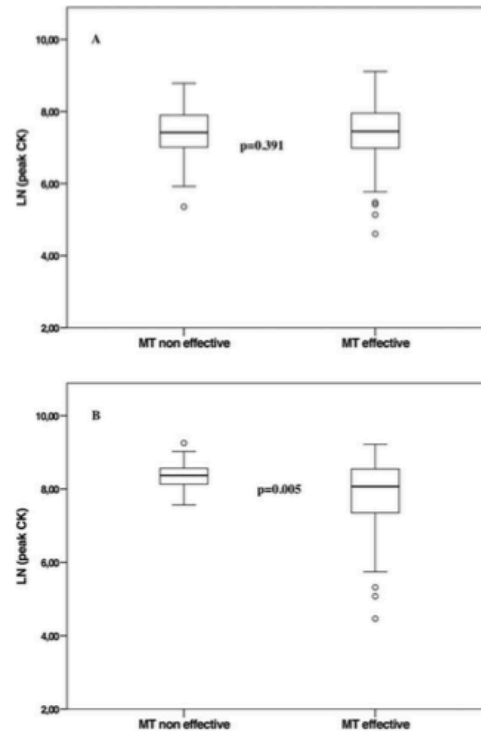


Fig. 2. (A and B) Comparisons of estimated infarct size (Ln-transformed peak CK) for patients who underwent manual thrombectomy (MT) in accordance to the area at risk (AAR). Only patients with AAR  $\geq 28\%$  (B) had lower peak CK if the MT was effective.

LV dysfunction (OR = 0.509,  $P = 0.008$ ), along with pre-infarct angina and higher creatinine clearance on admission. However, by multivariate analysis, the effectiveness of MT failed to independently predict in-hospital LV dysfunction (Table V).

Table VI shows the overall in-hospital clinical events. From the entire 850-patients cohort, 13 patients (1%) suffered a neurological event, three in the context of brain anoxia (profound hypotension and/or during resuscitation efforts) and one head trauma after cardiac arrest. Of the 9 (0.8%) remaining, one had spontaneous brain hemorrhage and 8 had an ischemic stroke (7 cardioembolic, one lacunar). No differences were found between the three groups.

## DISCUSSION

Although the removal of thrombus from an occluded coronary artery to restore vessel patency is very intuitive, the fact is that in later trials, the systematical utilization of MT showed no benefit as compared to standard PCI. Nevertheless, in a recent post-hoc

**TABLE III. Univariate and Multivariate Predictors of Infarct Size (Peak CK) for the Subgroup With the Approach Score  $\geq 28$  and in Whom Manual Thrombectomy Was Used ( $n = 184$ )**

	Univariate			Multivariate		
	B	95% CI	P-value	B	95%, CI	P-value
Pre-infarct angina	-863	-1437, -290	0.003			
MT-efficient	-1131	-2109, -153	0.024	-1217	2171, -263	0.013
Age	-22	-42, -4	0.022			
Creatinine Clearance	9	1, 16	0.027			
SYNTAX score	27	1, 55	0.058			
APPROACH score	31	-4, 66	0.085	81	33, 129	0.001
Aspirin (pre-treatment)	-731	-1571, 107	0.087			
Statin (pre-treatment)	-604	-1299, 107	0.088			
Gender (male)	416	-390, 1223	0.331			

Abbreviation: MT: manual thrombectomy.

**TABLE IV. In-hospital Echocardiographic Evaluation Prior to Discharge**

	Thrombectomy		P-value
	Effective ( $n = 429$ )	Ineffective ( $n = 74$ )	
LV dysfunction, $n(\%)$			0.007
Normal to mild ( $EF \geq 45\%$ )	279(65)	36(49)	
Moderate to severe ( $EF < 45\%$ )	150(35)	38(51)	

Abbreviations: LV: left ventricle; EF: ejection fraction.

angiographic analysis of the TOTAL trial (with only 30% of patients having initial TIMI 0-1 flow), distal embolization was more prevalent in the group who underwent PCI-only (which was independently associated with mortality) [14], whereas in a large retrospective series, final TIMI flow was better for the thrombectomy group (albeit with no clinical advantage after propensity score matching) [9].

The main focus of later trials was to compare MT against PCI-only with a lesser emphasis on its effectiveness and its interaction to the AAR. In a series from our institution, it was considered inefficient (inability to reach the lesion or to have a TIMI  $\geq 2$  after MT utilization prior to any other device) in 12.5% of cases and it was correlated to a significant higher rate of final no-reflow phenomenon [15]. In that series, both TIT and the Syntax score were found to be the major determinants of thrombectomy ineffectiveness, probably because thrombus may become more organized as time goes by, and therefore less likely to be removed and more likely to embolize to the microcirculation. Recently, one report showed that it proved to have clinical benefit only for patients presenting between 4 and 6 hr from symptoms onset [16], whereas in a previous series, thrombus aspiration reduced longer-term mortality only in patients presenting with a TIT shorter than 3 hr [17]. In accordance to this, one

recent trial showed no benefit for patients presenting later from symptoms onset ( $\geq 12$  hr) [18]. In our real world cohort, TIT in the ineffective group was unacceptably high, emphasizing that the "chain of survival" of STEMI patients must be continuously monitored. Targeting features that delay reperfusion, like symptoms recognition and timely transfer to a PCI-capable hospital, are of paramount importance to reduce TIT and to improve clinical outcomes.

Another aspect that makes thrombectomy less usable is its inability to negotiate tortuous vessels with heavy calcification preventing it from reaching the occlusion [19]. Final and most important, there are several determinants of final infarct size well beyond epicardial thrombus removal and coronary patency restoration, like the reperfusion injury phenomenon [20,21] and the role of the microvascular environment [22]. Simply put, thrombectomy targets only one aspect of reperfusion and it seems plausible that smaller AAR, longer ischemic time, ineffective thrombectomy and use in an already patent artery, may be associated with very small, or clinically unapparent benefits.

By focusing on the effectiveness of adjunctive MT (rather than studying its systematical utilization vs. PCI-only), the main conclusion that can be drawn from this retrospective series is that when effective, MT was beneficial only in patients who had large AAR. It seems scientifically plausible that large AAR have more myocardial to be rescued and may have more thrombus burden, and therefore more benefit could be expected from MT. The rate of no-reflow at the end of the procedure was lower if MT was effective, which could become clinically significant in larger series and with long-term follow-up [23]. Finally, efficient MT failed to independently influence MACCE or LV dysfunction. This could be explained by the modest reduction in infarct size as promoted by MT, which was incapable to translate into meaningful clinical outcomes [24,25].



TABLE V. Univariate and Multivariate Predictors for Moderate to Severe Left Ventricle Dysfunction

	Univariate			Multivariate		
	OR	95% CI	P-value	OR	95% CI	P-value
Age	1.012	1.001–1.023	0.040	1.019	1.002–1.036	0.034
MT efficiency	0.509	0.310–0.837	0.008			
APPROACH score	1.076	1.060–1.092	<0.001	1.049	1.025–1.073	<0.001
SYNTAX score	1.068	1.050–1.086	<0.001	1.035	1.008–1.062	0.011
Pre-infarct angina	0.662	0.483–0.506	0.010			
Creatinine clearance	0.995	0.991–0.999	0.026			
TIT	1.000	1.000–1.001	0.054	1.001	1.000–1.002	0.006
Peak TnT	1.114	1.080–1.148	<0.001			
Peak CK	1.000	1.000–1.001	<0.001	1.000	1.000–1.000	<0.001
2b/3a inhibitors	1.875	1.352–2.601	<0.001			
Killip 3-4 vs. 1-2	3.454	2.183–5.754	<0.001			
Gender (male)	0.767	0.501–1.174	0.222			

Abbreviations: MT: Manual thrombectomy; TIT: Total ischemic time.

TABLE VI. In-hospital MACCE Rate

	Thrombectomy		PCI-only (n = 325)	P-value <sup>a</sup>	P-value <sup>b</sup>
	Effective (n = 445)	Ineffective (n = 80)			
MACCE, n(%)	33(7.4)	9(11.3)	33(10.2)	0.247	0.231
Re-MI	10(2.2)	1(1.3)	5(1.5)	1.000	0.594
Death	19(4.3)	8(10)	26(8)	0.049	0.075
Neurological events, n(%)	8(1.8)	0(0)	5(1.2)	0.367	1.000
Brian anoxia	3(0.6)	0	0	1.000	0.287
Hemorrhagic	0	0	1(0.3)	1.000	0.387
Ischemic stroke	5(1.1)	0(0)	4(1.2)	1.000	0.741

<sup>a</sup>Comparison between thrombectomy effective versus ineffective.

<sup>b</sup>Comparison between thrombectomy (all) versus PCI-only

The stroke rate was low and was not different for patients undergoing MT as compared to PCI-only. This topic has gathered some controversy. Although in some previous metanalysis a trend toward an excess of stroke was identified in patients undergoing thrombectomy, in the TASTE trial no differences were found between studied groups [26]. In the TOTAL trial, the landmark differences in stroke was apparent by 48 hr, but not for as short as 12 hr post-PCI [27]. Then, the difference trended to increase after 90 days post-PCI, but the authors recognize this may have been due to chance as there is no plausible explanation for this finding. However, when the landmark analysis for different types of neurologic event (including transient ischemic attack) was carried out, the reported differences were barely significant [27]. When interpreting this data, one has to consider the elapsed time from PCI to the establishment of the neurologic event to admit causality; in addition, the low stroke rate might undermine definite conclusions about the nature of the association between MT and stroke due to limited statistical power. Nevertheless, it is plausible that MT induces procedural-related stroke. Care must be taken

in handling the thrombectomy device, assuring that it reenters the guiding catheter while exerting continuous negative pressure on the syringe while the guiding catheter is still engaged in the coronary artery to avoid thrombus embolization.

## LIMITATIONS

A major limitation from this series is its retrospective nature, carrying the well-known disadvantages as compared to randomized trials. Nevertheless, it reflects everyday practice and preferences of operators facing an acute total occluded coronary artery. Surrogate markers of infarct size and AAR are outperformed by CMR. Although they perform well when compared to CMR, one could always speculate that a more robust assessment of these features could lead to a different result. Another important limitation is that neither TIMI blush score nor ST-segment resolution were measured, which are well known surrogates for the successfulness of myocardial reperfusion. In our institution, Ticagrelor is now standard but it was started only in 2014, whereas Prasugrel was never



## 8 Luz et al.

used. The ongoing utilization of potent oral antiplatelet drugs, may help to further reduce the benefits of MT and narrow the difference between efficient and non-efficient MT. Finally, the sample is small and the results must be interpreted with caution, especially for hard clinical endpoints.

## CONCLUSIONS

Although the authors agree that routine MT can no longer be recommended, in a STEMI-patient presenting with a totally occluded artery the utilization of MT, if efficient, may reduce infarct size if the estimated area at risk is large. Aligned with current reports, no major clinical impact could be appreciated from MT, regardless of its effectiveness. In regards to stroke rate, we find no difference between MT and PCI-only groups.

## STATEMENT REGARDING INFORMED CONSENT

This retrospective study was derived from electronic records; no informed consent was obtained from patients.

## REFERENCES

- Burzotta F, De Vita M, Gu YL, Isshiki T, Lefevre T, et al. Clinical impact of thrombectomy in acute ST-elevation myocardial infarction: An individual patient-data pooled analysis of 11 trials. *Eur Heart J* 2009;30:2193–2203.
- De Luca G, Dudek D, Sardella G, Marino P, Chevalier B, Zijlstra F. Adjunctive manual thrombectomy improves myocardial perfusion and mortality in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: A meta-analysis of randomized trials. *Eur Heart J* 2008;29:3002–3010.
- Kumbhani DJ, Bavry AA, Desai MY, Bangalore S, Byrne RA, Jneid H, Bhatt DL. Aspiration thrombectomy in patients undergoing primary angioplasty: Totality of data to 2013. *Catheter Cardiovasc Interv* 2014;84:973–977.
- Lagerqvist B, Frobert O, Olivecrona GK, Gudnason T, Maeng M, et al. Outcomes 1 year after thrombus aspiration for myocardial infarction. *N Engl J Med* 2014;371:1111–1120.
- Jolly SS, Cairns JA, Yusuf S, Meeks B, Pogue J, et al. Randomized trial of primary PCI with or without routine manual thrombectomy. *N Engl J Med* 2015;372:1389–1398.
- Siudak Z, Mielecki W, Dziewierz A, Rakowski T, Legutko J, Bartus S, Bryniarski KL, Partyka L, Dudek D. No long-term clinical benefit from manual aspiration thrombectomy in ST-elevation myocardial infarction patients. Data from NRDES registry. *Catheter Cardiovasc Interv* 2015;85:E16–E22.
- Levine GN, Bates ER, Blankenship JC, Bailey SR, Bittl JA, et al. 2015 ACC/AHA/SCAI focused update on primary percutaneous coronary intervention for patients with ST-elevation myocardial infarction update. Of the 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention and the 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol* 2016;67:1235–1250.
- Jolly SS, Cairns JA, Yusuf S, Rokoss MJ, Gao P, et al. Outcomes after thrombus aspiration for ST elevation myocardial infarction: 1-year follow-up of the prospective randomised TOTAL trial. *Lancet* 2016;387:127–135.
- Sirker A, Mamas M, Kwok CS, Kontopantelis E, Ludman P, Hildick-Smith D, British Cardiovascular Intervention S. Outcomes from selective use of thrombectomy in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: An analysis of the British Cardiovascular Intervention Society/National Institute for Cardiovascular Outcomes Research (BCIS-NICOR) Registry, 2006–2013. *JACC Cardiovasc Interv* 2016;9:126–134.
- Dominguez AC, Bittl JA, El-Hayek G, Contreras E, Tamis-Holland JE. Meta-analysis of randomized controlled trials comparing percutaneous coronary intervention with aspiration thrombectomy vs. Conventional percutaneous coronary intervention during ST-segment elevation myocardial infarction. *Catheter Cardiovasc Interv* 2015;87:1203–1210.
- Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blomstrom-Lundqvist C, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J* 2012;33:2569–2619.
- Ortiz-Perez JT, Meyers SN, Lee DC, Kansal P, Klocke FJ, Holly TA, Davidson CJ, Bonow RO, Wu E. Angiographic estimates of myocardium at risk during acute myocardial infarction: Validation study using cardiac magnetic resonance imaging. *Eur Heart J* 2007;28:1750–1758.
- Fuermat G, Eitel I, Franke V, Hildebrandt L, Meissner J, de Waha S, Lurz P, Gutberlet M, Desch S, Schuler G, et al. Myocardium at risk in ST-segment elevation myocardial infarction comparison of T2-weighted edema. Imaging with the MR-Assessed Endocardial Surface Area and Validation against Angiographic Scoring. *JACC Cardiovasc Imaging* 2011;4:967–976.
- Sharma V, Jolly SS, Hamid T, Sharma D, Chiha J, et al. Myocardial blush and microvascular reperfusion following manual thrombectomy during percutaneous coronary intervention for ST elevation myocardial infarction: Insights from the TOTAL trial. *Eur Heart J* 2016;37:1891–1898.
- Luz A, Rodrigues P, Sousa MJ, Silveira I, Anjo D, Brochado B, Santos M, Silveira J, Cyrne Carvalho H, Torres S. Thrombus aspiration for reperfusion in myocardial infarction: Predictors and clinical impact of ineffectiveness. *Rev Port Cardiol* 2014;33:753–760.
- Sim DS, Jeong MH, Ahn Y, Kim YJ, Chae SC, et al. Manual thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention: Impact of total ischemic time. *J Cardiol* 2017;69:428–435.
- Noman A, Eged M, Bagnall A, Spyridopoulos I, Jamieson S, Ahmed J. Impact of thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention on mortality in ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2012;33:3054–3061.
- Desch S, Stiermaier T, de Waha S, Lurz P, Gutberlet M, et al. Thrombus aspiration in patients with ST-segment elevation myocardial infarction presenting late after symptom onset. *JACC Cardiovasc Interv* 2016;9:113–122.
- Vink MA, Kramer MC, Li X, Damman P, Rittersma SZ, Koch KT, van der Wal AC, Tijssen JG, de Winter RJ. Clinical and angiographic predictors and prognostic value of failed thrombus aspiration in primary percutaneous coronary intervention. *JACC Cardiovasc Interv* 2011;4:634–642.
- Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N Engl J Med* 2007;357:1121–1135.
- Ndrepepa G. Improving myocardial injury, infarct size, and myocardial salvage in the era of primary PCI for STEMI. *Coron Artery Dis* 2015;26:341–355.

Catheterization and Cardiovascular Interventions DOI 10.1002/ccd.

Published on behalf of The Society for Cardiovascular Angiography and Interventions (SCAI).

**Manual Thrombectomy and Area at Risk 9**

22. Heusch G. The coronary circulation as a target of cardioprotection. *Circ Res* 2016;118:1643–1658.
23. Ndrepepa G, Tiroch K, Fusaro M, Keta D, Seyfarth M, et al. 5-year prognostic value of no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2010;55:2383–2389.
24. Stankovic G, Milasinovic D. The role of manual aspiration thrombectomy in the management of STEMI: A TOTALly different TASTE of TAPAS. *Postepy Kardiol Interwencyjne* 2016;12:3–5.
25. Weintraub WS, Lüscher TF, Pocock S. The perils of surrogate endpoints. *Eur Heart J* 2015;36:2212–2218.
26. Olivecrona GK, Lagerqvist B, Frobert O, Gudnason T, Maeng M, et al. Impact of thrombus aspiration during ST-Elevation Myocardial Infarction: A six month composite endpoint and risk of stroke analyses of the TASTE trial. *BMC Cardiovasc Disord* 2016;16:62.
27. Jolly SS, Cairns JA, Yusuf S, Meeks B, Gao P, et al. Stroke in the TOTAL trial: A randomized trial of routine thrombectomy vs. percutaneous coronary intervention alone in ST elevation myocardial infarction. *Eur Heart J* 2015;36:2364–2372.

## IV – DISCUSSÃO

### VI.1. Análise dos trabalhos publicados

#### 1 – Impacto da angina pré-enfarte em doentes com EAM c/ ST submetidos a ICP primária e relação com o tempo de sintomas.

Através da análise de uma série dos doentes com EAM c/ ST tratados por angioplastia no CHUP, verificamos que a angina pré-enfarte na semana prévia ao evento isquémico foi um determinante independente de menor área de enfarte e de melhor performance ventricular esquerda. Tal como fora postulado (e até agora pouco explorado na literatura), o estímulo cardioprotector oferecido pela angina pré-enfarte foi limitado pelo tempo isquémico total. Com efeito, a vantagem cardioprotectora apenas foi observada em doentes com tempo isquémico total entre 3-6h<sup>143</sup>. Daqui se deduz que a cardioprotecção fornecida pelo PreCond (no nosso trabalho não foi aferido o efeito “clássico” vs “tardio”) foi nula se o tempo de sintomas for superior a 6h, e provavelmente irrelevante se a reperfusão for mais atempada (<3h), podendo proteger os doentes que se apresentem entre aqueles limites temporais. Estes achados vão ao encontro da tese em que as manobras de condicionamento isquémico têm uma janela temporal óptima para a sua aplicação<sup>106</sup>. Em linha com estudos previamente publicados, confirmou-se a angina pré-enfarte como um factor independente na redução do pico de TnT, qualificando-a como um potente estímulo cardioprotector. Não é por isso de estranhar que se tentasse, quer em ambiente laboratorial, quer através de ensaios clínicos, mimetizar, através da manobra do PosCond isquémico, o estímulo cardioprotector conferido pelo PreCond. Foi ainda interessante constatar, contudo, que a mortalidade cumulativa relacionou-se de forma independente com a classe Killip 3-4, com o pico de TnT e com a disfunção ventricular esquerda moderada a severa, mas não com a angina pré-enfarte. Contudo, em séries de maior dimensão<sup>194</sup>, a angina pré-enfarte teve impacto na mortalidade. Por isso, considera-se que se a série estudada fosse

mais ampla, também se verificaria o seu efeito cardioprotector, particularmente no grupo de doentes que dela mais beneficiariam (entre 3-6h de sintomas).

Apesar do estímulo cardioprotector conferido pelo PreCond, este pode ser diminuído na presença de co-morbilidades várias, tais como a presença de factores de risco vascular<sup>195</sup>. Estudos experimentais identificaram a diabetes *mellitus* como um forte atenuador dos estímulos do condicionamento isquémico, admitindo-se que o stress oxidativo desempenhe um papel central na modulação negativa daquela resposta<sup>196</sup>. Surpreendentemente, verificamos que o efeito da angina pré-enfarte foi mais manifesto em doentes diabéticos, e para a mesma AER<sup>197</sup>. Podendo tratar-se de um acaso, é contudo admissível que sendo a diabetes *mellitus* uma doença que eleva o estado oxidativo basal, e tendo o PreCond como alvo a capacidade em modular os radicais livres de oxigénio, o seu efeito seja mais notório nesta população<sup>196</sup>. Além de alguns estudos em modelos animais, é pobre a informação sobre esta matéria em humanos.

Outra co-morbilidade muito pouco estudada e que pode interferir com o PreCond é a insuficiência renal crónica. Verificamos, numa série de doentes com EAM c/ ST, que o efeito da angina pré-enfarte diminuiu à medida que diminuía a taxa de filtração glomerular, postulando-se que a disfunção renal moderada a grave possa limitar o PreCond (e provavelmente outras formas de condicionamento), na prevenção da LIR associada ao enfarte<sup>197</sup>.

## **2 – Papel da trombectomia aspirativa na reperfusão. Preditores da sua eficácia, interação com a AER e impacto clínico.**

Dois trabalhos visaram explorar o impacto da eficácia da TAm na diminuição da área de enfarte. Contrariamente à maioria dos estudos publicados até à data, não foi objectivo primário comparar a TAm *versus* angioplastia simples. Em ambos os trabalhos, dividiu-se uma série consecutiva de doentes com EAM c/ ST submetidos a TAm segundo o critério do operador e exclusivamente apresentando fluxo coronário TIMI 0-1, em grupos onde tenha sido eficaz (fluxo coronário TIMI 2-3 após a sua utilização), ou ineficaz (se fluxo TIMI <2). Não foi surpresa verificar que o

tempo isquémico total e a severidade anatômica coronária (score Syntax) fossem os preditores independentes para que o fluxo TIMI 2-3 não fosse obtido a seguir à utilização da TAm<sup>198</sup>. De facto, se o tempo até à reperfusão for demasiado longo, é plausível que o trombo coronário se torne mais organizado e difícil de remover através do cateter de aspiração. Contudo, no trabalho seguinte (e numa maior série de doentes)<sup>199</sup>, verificou-se existir uma interacção significativa entre a eficácia da TAm e a AER na diminuição do pico de CK. Relativamente aos receios recentemente levantados à segurança desta técnica, não se confirmou maior taxa de AVC em comparação com os doentes submetidos a angioplastia simples. Em linha com estudos recentes, a eficácia da TAm não teve impacto na área de enfarte (avaliada pelos picos enzimáticos) a não ser para AER > 28%, e, mesmo assim, o seu efeito foi modesto. Concluiu-se assim que a aspiração do trombo coronário, se for eficaz, pode ser benéfica apenas em doentes que se apresentem com oclusão coronária total ou sub-total (fluxos TIMI 0-1) e para uma grande AER. Vale a pena observar, que a avaliação da eficácia da TAm só recentemente foi elencada na literatura científica. De facto, foi interessante verificar, que numa série de doentes com EAM c/ ST submetidos a TAm, a quantidade de trombo residual observado através de tomografia de coerência óptica correlacionou-se com menor MBG e com maior pico enzimático pós stent<sup>128</sup>. Também nos nossos trabalhos, a taxa de fenómeno de “*no-reflow*” no final da ICP foi significativamente maior no grupo em que a TAm foi considerada ineficaz. Daqui se depreende que se a TAm for eficaz na remoção do trombo, o risco de microembolização diminui. Por inerência, é lícito postular que o impacto clínico da TAm será mais relevante em casos de grande AER.

### **3 – Papel do PosCond após trombectomia aspirativa. Estudo aleatorizado.**

A manobra do PosCond durante a angioplastia, pretende amenizar os efeitos deletérios impostos pela reperfusão. Postulou-se que o PosCond pudesse ser limitado pela microembolização coronária, antevendo-se que a TAm antes do PosCond contribuísse para que se obtivesse menor área de enfarte. Para estudar

esta hipótese, desenhou-se um ensaio clínico aleatorizado de caso-controlo, paralelo, aberto e de iniciativa do investigador, em que doentes com oclusão coronária fossem sistematicamente submetidos a TAM com ou sem a manobra do PosCond<sup>200</sup>. Verificou-se não haver diferença na área de enfarte (avaliados pela área por baixo da curva de seriação da TnT até às 72 h) ou na FEVE. De realçar que a mediana de tempo de sintomas até à reperfusão foi de 130 minutos, ou seja, dentro da janela temporal que se considera útil para que as manobras de cardioprotecção sejam eficazes. Os resultados deste trabalho alinham-se com a maioria das publicações que visaram estudar o PosCond, questionando-se se esta técnica, apesar dos resultados observados quer em ambiente laboratorial, quer demonstrados nalguns estudos clínicos, poderá ter lugar no contexto actual do estado da arte da reperfusão coronária (ver adiante). Ainda assim, encontra-se a decorrer um estudo muito semelhante a este (PORT), que pretende recrutar 72 doentes submetidos a TAM de rotina e manobra de PosCond vs Controlo. A única diferença reside no método de aferição da área de enfarte e de taxa de salvamento miocárdico, avaliada por RMC aos 3-5 dias e aos 3 meses<sup>201</sup>.

#### **4 – Impacto do PosCond nos níveis séricos de sTRAIL. Modulação da apoptose em humanos?**

Um dos efeitos propostos do PosCond na limitação da LIR, tem por base a diminuição da apoptose associada à reperfusão. Contudo, este aspecto tem sido pouco estudado em ambiente clínico. Sabendo-se que vários biomarcadores têm emergido como potenciais aferidores de prognóstico nas várias áreas da cardiologia contemporânea, o doseamento periférico de biomarcadores relacionados com a apoptose (e mais especificamente para a aferição de manobras conducentes à limitação da LIR) podem ajudar a aprofundar os conhecimentos da LIR, na descoberta de alvos terapêuticos alternativos. O *Serum TNF-related Apoptosis Induced Ligand - sTRAIL*, apesar de primariamente actuar na indução da apoptose, tem sido apontado como uma molécula capaz de exercer efeitos não apenas pró-apotóticos mas também pró-proliferativos e anti-apoptóticos (nomeadamente em

território cardio-vascular)<sup>202</sup>. Em doentes com síndromes coronárias agudas, valores mais baixos de sTRAIL relacionaram-se com maior necrose miocárdica, pior performance ventricular esquerda e pior prognóstico<sup>203,204</sup>. Num subestudo do ensaio aleatorizado anterior, verificamos que os doentes submetidos à manobra do PosCond obtiveram valores significativamente mais elevados de sTRAIL 24h pós reperfusão<sup>205</sup>. Adicionalmente, constatamos uma correlação negativa com a TnT e com a FEVE. Assim, apesar de não interferir com parâmetros clássicos e bem validados na literatura (a TnT e a FEVE), neste subestudo, o PosCond influenciou positivamente o sTRAIL de forma significativa, o que leva a supor que esta manobra possa, através de um mecanismo ainda desconhecido, modular as vias de apoptose durante a reperfusão e com ajudar a limitar a área de enfarte. Porque é que níveis mais elevados de sTRAIL se têm relacionado com melhor prognóstico em doentes com síndromes coronárias agudas é ainda largamente desconhecido. Por um lado, verificou-se em modelos experimentais que a libertação de enzimas proteolíticas na região do enfarte como as metaloproteases podem clivar o sTRAIL, impedindo-o de exercer as suas actividades anti-inflamatórias e anti-ateroscleróticas<sup>206</sup>. Ainda, admite-se que essa diminuição plasmática poderá limitar a apoptose de neutrófilos recrutados para a área de enfarte, potenciando a sua actividade inflamatória, e por conseguinte fazendo aumentar a área de enfarte<sup>203</sup>. Em face das características duais (pro e anti-apoptóticas) do sTRAIL, é tentador postular que estímulos cardioprotectores como o PosCond possam ou aumentar a produção ou limitar a degradação do sTRAIL. Foi de todo interessante verificar, que a angina pré-enfarte foi um factor independente para valores mais elevados de sTRAIL na análise multivariada. Por isso quisemos estudar o efeito do “duplo condicionamento”, ou seja, saber se o valor do sTRAIL seria diferente se se conjugassem os estímulos de PreCond (manifestado pela angina pré-enfarte) e PosCond. Verificou-se que apenas os doentes duplamente condicionados tiveram valor mais elevado de sTRAIL às 24h pós reperfusão, em comparação com os controlos (sem condicionamento)<sup>197</sup>. Pese embora a limitação imposta pelo reduzido número de participantes, este achado permite supor que o PreCond e o PosCond tenham um efeito sinérgico nos níveis de sTRAIL, superior ao efeito de cada um isoladamente. Finalmente, alguns investigadores consideram que a administração de sTRAIL recombinante a doentes



com patologia cardiovascular (estável) ou mesmo com enfarte possa ter impacto prognóstico favorável<sup>202</sup>.

## IV.2. O que falhou até agora?

Após 30 anos de estudo envolvendo a LIR, assiste-se a uma imensa dificuldade em aplicar os conhecimentos gerados em laboratório na prática clínica corrente<sup>207-209</sup>. De facto, apesar da descoberta das vias moleculares que se acredita estarem envolvidas na cardioprotecção e dos mecanismos que permitem atenuar a LIR no modelo animal, a sua aplicação clínica teima em não produzir os resultados esperados. São várias as causas concorrentes para a frustração actual.

Dentre essas causas destacam-se a co-morbilidade dos doentes e a medicação (quer crónica, quer periprocedimento), difíceis de replicar no modelo animal. A hipertensão arterial, a dislipidémia, a diabetes, a insuficiência cardíaca, a resistência à insulina, o envelhecimento e a extensão da doença coronária (carga aterosclerótica), quer isoladamente ou em conjunto, alteram a mecanística intracelular envolvida na cardioprotecção, tornando a célula miocárdica menos sensível às manobras cardioprotectoras e por isso mais exposta à LIR. Por outro lado, fármacos utilizados para tratar estas patologias (em particular as estatinas, mas também os nitratos ou bloqueadores beta), podem, *per se*, atenuar a LIR<sup>210</sup>. Ainda, alguns fármacos administrados aos doentes com EAM c/ ST, tais como os opiáceos ou inibidores P2Y12 (em particular o ticagrelor mas também o clopidogrel), ao possuírem actividade cardioprotectora intrínseca (condicionamento farmacológico), podem condicionar a célula miocárdica a um patamar suficientemente elevado, não deixando margem terapêutica apreciável para a manobra do condicionamento isquémico<sup>131</sup>. Neste contexto, uma das conclusões do “*ESC Working Group Cellular Biology of the Heart*” de 2014 no que toca ao estabelecimento da investigação pré-clínica de terapias inovadoras da LIR, refere-se à necessidade de os modelos laboratoriais incorporarem as co-morbilidades e o ambiente farmacológico o mais próximo possível da realidade clínica<sup>211</sup>.

Admitindo-se que grande parte da incapacidade em replicar os resultados pré-clínicos na prática clínica se deva à metodologia pouco rigorosa de alguns estudos em modelos animais, foi criado, nos EUA, o “*NHLBI-Sponsored Consortium*

*for preclinical assessment of cardioprotective therapies (CAESAR)*” com o objectivo de criar uma infraestrutura capaz de promover a excelência experimental, incorporando-se as mesmas metodologias de um ensaio clínico aleatorizado e multicêntrico (tais como centros independentes de colheita e análise de dados na avaliação de biomarcadores e da área de enfarte em peças de anatomia patológica de modelos animais)<sup>212,213</sup>. Daqui se depreende, que a procura de métodos de cardioprotecção atenuantes da LIR se mantém na agenda das principais sociedades científicas.

Uma variável que interfere de forma muito expressiva com a eficácia das manobras de cardioprotecção, é o momento da sua aplicação em face da evolução temporal da isquemia. Com efeito, se o tempo até à reperusão for curto, diga-se na primeira hora desde o início da oclusão coronária, as técnicas de cardioprotecção (intervenção farmacológica ou mecânica), serão pouco úteis dada a eficácia da reperusão precoce; no outro extremo, se o tempo isquémico for superior, diga-se, a 6h, provavelmente a necrose será demasiado extensa, havendo pouco espaço para que as manobras de cardioprotecção sejam úteis<sup>99,131</sup>. Por exemplo, no estudo CIRCUS, quase 20% dos doentes tiveram um tempo isquémico total superior a 6h, o que pode ajudar a justificar a neutralidade dos resultados<sup>184</sup>. O momento em que é aplicado o estímulo do PosCond também pode interferir com o resultado, uma vez que os efeitos da LIR ocorrem nos primeiros segundos da reperusão. Por isso, a manobra do PosCond será tão menos eficaz quanto mais distante for executada em relação ao momento zero da reperusão (admite-se que este conceito seja válido para qualquer manobra ou fármaco que se pretenda actuar na LIR).

Um outro factor importante a ter em conta, prende-se com a microembolização quer de material trombótico, quer de detritos da placa aterosclerótica decorrente da reperusão em humanos, algo que não ocorre em modelos animais em que o enfarte é produzido através da oclusão extrínseca de uma artéria coronária saudável. É concebível que a manobra do PosCond durante a angioplastia primária poderá, *per se*, promover um acréscimo de microembolização distal. Contudo, os recentes trabalhos (de grande dimensão amostral) que visaram estudar a TAM, falharam em confirmar o entusiasmo inicial. Provavelmente, a lesão letal de reperusão é mesmo uma peça demasiado importante na determinação final

da área de enfarte, comparativamente à micromebolização distal gerada pelo complexo trombo/placa aterosclerótica. Encontrando-se a TAM apenas focada na eliminação (necessária mas não suficiente) do trombo coronário, e sabendo-se que o fenómeno de *no-reflow* depende em grande medida da lesão letal de reperfusão (e portanto dos seus efeitos bioquímicos que levam à desestruturação microvascular)<sup>113</sup>, talvez isso ajude a justificar os resultados decepcionantes decorrentes dos últimos estudos. Contudo, é plausível que se a área em risco for considerável e o tempo de sintomas relativamente curto, a TAM possa ser uma ferramenta eficaz na diminuição da área de enfarte.

A reduzida dimensão amostral de alguns ensaios clínicos também pode ser um entrave à tradução clínica dos resultados encontrados em modelos experimentais. De facto, em ambiente laboratorial controlado é possível sobrestimar o efeito do condicionamento isquémico ou de fármacos que actuem nas vias celulares associadas à cardioprotecção. Decorrente dos modelos experimentais, se o potencial cardioprotector de um determinado agente for elevado, isso tenderá a que se desenhem ensaios clínicos de dimensão modesta para reproduzir um resultado de magnitude semelhante. Consequentemente, em ambiente clínico, a população estudada poderá ser muito heterogénea e acompanhada das nuances anteriormente descritas, o que tenderá a mitigar o efeito esperado se a amostra for pequena<sup>131</sup>. Ainda neste raciocínio, convém não esquecer que no modelo laboratorial o enfoque primário é a redução da área de enfarte, enquanto que o objetivo último da investigação clínica é melhorar o prognóstico dos doentes em termos de *endpoints* major, o que exige séries de dimensão considerável.

Sendo verdade que a extensão final do enfarte se correlaciona com o prognóstico clínico a longo prazo<sup>41</sup>, será contudo necessário que a diminuição da área final de enfarte seja de magnitude significativa, (e não apenas marginal), a fim de ser traduzível em melhoria prognóstica. Considera-se que a morbi-mortalidade associada ao enfarte relaciona-se com áreas de necrose > 20% da massa ventricular esquerda, e estima-se que em cerca de 25% dos doentes submetidos a reperfusão, a área final de enfarte é cerca de 75% da AER; calcula-se, que as terapêuticas desenhadas para limitar a LIR tenham de reduzir essa área final de enfarte para 40% (no subgrupo mais grave) ou para 20% (no global dos doentes) da

AER, o que não é fácil, por forma a obter-se impacto clínico relevante<sup>214</sup>. Ainda neste contexto, e apesar da RMC ser o método não invasivo por excelência para avaliar a eficácia das manobras cardioprotectoras nos recentes ensaios clínicos, convém ter presente que a estimativa da AER por este método de imagem (e daí o cálculo da área reperfundida em função da AER) tem sido questionada<sup>104</sup>. Além do cálculo da AER, assiste-se a significativa heterogeneidade na avaliação da área de enfarte por RMC nos últimos estudos, havendo mesmo recomendações para que essa avaliação seja padronizada nos próximos estudos, de forma a que se possam comparar resultados<sup>215</sup>.

No caso de estudos clínicos envolvendo fármacos, um dos mais desapontantes foi o estudo CIRCUS, em que a administração de ciclosporina A não diminuiu a área de enfarte de doentes tratados até 12h de sintomas (n= 970). Uma das causas apontadas para a não confirmação dos resultados promissores de uma série piloto de menor dimensão (com 56 doentes), foi que o veículo que transportava o princípio activo (intralipid), e que se sabe ter propriedades cardioprotectivas, possa ter minimizado o efeito da ciclosporina no estudo de maior dimensão<sup>216,217</sup>. Contudo, o estudo CYCLE<sup>218</sup>, apenas veio confirmar a neutralidade dos benefícios da ciclosporina na reperfusão. Outro estudo decepcionante foi o já citado EARLY BAMI, em que a administração intra-venosa de metoprolol antes da angioplastia não concedeu menor área de enfarte<sup>191</sup>. Comparativamente ao anterior estudo METOCARD-CNIC, neste foi permitido o recrutamento de doentes com enfarte não apenas da parede anterior (correspondendo a cerca de 50% da amostra), a dose de metoprolol foi menor, e quase 20% dos doentes já se encontravam sob bloqueadores beta antes do recrutamento (critério de exclusão no estudo METOCARD-CNIC). Ou seja, se por um lado a AER era menor e portanto menos impacto teria uma medida cardioprotectora, por outro, o pré tratamento com bloqueadores beta poderia elevar o cardiomiócito a um patamar de pre-condicionamento suficientemente elevado, tornando-se fútil a sua administração nesses doentes.

Outra causa plausível para a falência de resultados clínicos pode dever-se à diferente resposta cardioprotectora inter-espécies, não sendo linear que determinada resposta obtida num roedor ou até num animal de maior porte seja

replicada na espécie humana<sup>131</sup>, sabendo-se, por exemplo, da maior resistência à oclusão coronária nos primatas em comparação com outros mamíferos<sup>104</sup>.

Por fim, em face dos resultados desapontantes dos estudos CIRCUS e CYCLE, é cientificamente plausível que na espécie humana, a LIR apenas possa ser limitada se vários alvos terapêuticos sejam simultaneamente atingidos, e não apenas o passo final da cascata intracelular envolvida na cardioproteção, ou seja, a abertura do MPTP. Para explorar este efeito, foi desenhado o estudo COMBAT-MI (n=360), que pretende estudar a sinergia entre o CondRem e a administração de exenatide imediatamente antes da angioplastia primária.

Em conclusão, apesar de alguns estudos clínicos terem mostrado resultados promissores, na generalidade, o estado actual das manobras mecânicas ou farmacológicas para minimizar a LIR têm-se pautado por uma grande frustração, filiado numa plethora de factores. Da evidência acumulada, parece que em doentes com áreas em risco modestas, com tempos de sintomas muito longos (talvez para além das 6h), e que já se encontrem sob fármacos mimetizadores do condicionamento isquémico, não será de esperar grande efeito terapêutico das manobras cardioprotectoras (mecânicas ou farmacológicas) aditivas ao actual estado da arte da reperfusão coronária. No outro extremo, se se tratar de um doente com enfarte extenso sem terapêutica cardioprotectora prévia (nomeadamente estatina ou bloqueador beta), e que se apresente numa janela temporal de sintomas não superior a 6h, os benefícios da cardioproteção promovidos pelo PosCond, ou pelo CondRem, serão porventura mais relevantes<sup>219</sup>.

### **IV.3. Orientações futuras**

Olhando para os resultados muito promissores dos ensaios clínicos que pretenderam estudar o CondRem, talvez valerá a pena atentar nesta técnica com vista à redução da LIR no EAM c/ ST. Apesar da dimensão amostral ainda ser modesta, a constância de resultados convida a que se olhe com optimismo para os ensaios clínicos em curso. Acresce que se trata de uma técnica muito simples e segura, havendo já dispositivos comercializados e disponíveis para a sua implementação na emergência pré-hospitalar. Uma das razões apontadas para que

este método tenha melhores resultados do que o PosCond (local), é que a manobra de cardioprotecção começa *previamente* à reperfusão. Talvez o cardiomiócito seja mais sensível ao estímulo cardioprotector se este for efectuado *a montante*, do que *a jusante* da reperfusão. No domínio farmacológico, destaca-se a administração de metoprolol IV também *prévia* à angioplastia, verificando-se, numa sub-análise do estudo METOCARD-CNIC, que quanto mais precoce fosse a administração do bloqueador beta em relação à reperfusão, menor a área de enfarte<sup>220</sup>. Talvez seja lícito especular, se na espécie humana, a LIR possa estabelecer-se na sua plenitude segundos após a reperfusão coronária, não havendo espaço para que o PosCond isquémico coronário possa actuar. A confirmarem-se os resultados preliminares em estudos de maior dimensão, estas duas medidas, uma intervenção mecânica e outra farmacológica, pela sua simplicidade e pela sua segurança, poderão com facilidade ser implementados na emergência pré-hospitalar ou hospitalar, antes de o doente ser submetido à reperfusão. Dado o atraso que ainda se verifica entre o início dos sintomas e a activação da emergência pré-hospitalar e daí até à reperfusão, vale a pena verificar, que numa sub-análise do estudo CONDI, o condicionamento remoto atenuou o efeito negativo imposto pelo atraso do sistema de saúde até à reperfusão percutânea; ou seja, para doentes em que o tempo decorrido desde a activação do serviço de emergência médica até à reperfusão fosse superior a 120 minutos, o CondRem atenuou a lesão miocárdica em comparação com doentes submetidos a angioplastia convencional (mas sem efeito nos que foram tratados mais precocemente)<sup>221</sup>.

Em face da heterogeneidade dos doentes com EAM c/ ST e das limitações dos estudos discutidos acima, é lícito admitir que o PosCond não seja uma técnica capaz de limitar a extensão do enfarte em todos os doentes. Mas talvez seja prematuro o seu abandono. Convém não esquecer que em ensaios piloto e utilizando bio-marcadores de necrose miocárdica, o PosCond reduziu a área de enfarte, demonstrando-se ainda em pelo menos um estudo menor taxa de insuficiência cardíaca aos 3 meses. Aguardemos pelo estudo PORT: ao contrário do nosso estudo em que a extensão do enfarte foi estimada através da enzimologia cardíaca, talvez se constate por RMC que a sinergia TAm/PosCond possa afinal ser benéfica<sup>201</sup>. Num momento em que a Medicina deve ser cada vez mais

personalizada e pese embora a evidência já disponível, vale a pena reflectir, se as manobras de PosCond e CondRem devam ser liminarmente abandonadas ou, pelo contrário, consideradas em face de enfarte extenso com <6h de sintomas<sup>219</sup>.

Dado o impacto da LIR na extensão final do enfarte, a prossecução de iniciativas com vista à descoberta de métodos capazes de a limitarem de forma segura e facilmente reprodutível, constitui um desafio apaixonante. Transitar do conceito clássico necessário, (mas insuficiente), que é o de reperfundir a artéria epicárdica, para a modulação do ambiente microvascular e celular, será, certamente, a derradeira fronteira da reperfusão do doente com EAM c/ ST.



## V - CONCLUSÕES

As principais conclusões desta tese, são:

- 1 . O PreCond, manifestado pela angina pré-enfarte, afigurou-se como um potente estímulo na redução da área de enfarte, mais relevante se o tempo até à reperfusão se situar entre 3-6h; os doentes que tiveram angina pré-enfarte beneficiaram ainda de melhor performance ventricular esquerda à data da alta hospitalar. Ainda, verificamos que o efeito do PreCond foi mais manifesto na população diabética; o seu efeito foi-se atenuando à medida que decresceu a taxa de filtração glomerular.
- 2 . A TAm, quando eficaz, demonstrou ser modestamente benéfica na diminuição da área de enfarte e apenas para uma AER > 28%. Apesar disso, não se verificou maior taxa de AVC nos doentes submetidos a TAm. A sua eficácia na eliminação do trombo epicárdico decresce à medida que o tempo de sintomas aumenta, e em condições de maior complexidade anatómica.
- 3 . O PosCond isquémico seguido da TAm, não conseguiu reduzir a área de enfarte ou melhorar a FEVE num estudo aleatorizado caso-controlo. Contudo, verificou-se que o PosCond pode modular vias de regulação da apoptose celular, manifestadas através do aumento dos níveis periféricos de sTRAIL. Adicionalmente, verificamos que o “duplo condicionamento” fez aumentar o sTRAIL em comparação com o PreCond ou o PosCond isoladamente, face aos controlos.

## VI- RESUMO / ABSTRACT

Apesar do espectacular avanço na terapêutica da reperfusão no EAMc/ST, ainda se assiste a considerável morbi-mortalidade imediata e tardia. Mesmo que a mortalidade imediata tenha sido significativamente reduzida, nalguns subgrupos de doentes esta é ainda elevada; e nos doentes que sobrevivem á fase hospitalar, muitos são readmitidos por insuficiência cardíaca congestiva. Sabendo-se que a morbi-mortalidade associada ao EAM c/ ST depende da área final do enfarte, e acreditando-se que cerca de 40% desta depende da LIR, a identificação dos mecanismos responsáveis pela LIR bem como de estratégias que possam mitigar os seus efeitos, têm sido alvo de intensa investigação básica e aplicada.

O PreCond constitui um poderoso estímulo cardioprotector da LIR. Contudo, este estímulo pode ser limitado se o tempo isquémico total for demasiado alargado, ou fútil no cenário ideal de reperfusão precoce. Numa série contemporânea de doentes com EAM c/ ST tratados por angioplastia primária, verificamos que os doentes com angina pré-enfarte (um estímulo endógeno replicador do PreCond) tiveram pico de TnT mais baixo que os doentes sem angina-pré-enfarte, mas apenas significativamente menor para os doentes que se apresentassem com 3-6h de sintomas. Abaixo ou acima daquele intervalo de tempo, a angina pré-enfarte não teve impacto significativo. Confirmou-se ainda que doentes com angina pré-enfarte tiveram melhor performance ventricular esquerda na fase hospitalar. Adicionalmente, verificamos que o efeito da angina pré-enfarte foi mais notório na população diabética, e menos eficaz à medida que diminuía a taxa de filtração glomerular.

A reperfusão da artéria epicárdica responsável pelo enfarte continua a ser o gesto central no tratamento do EAM c/ ST. A TAM afigurava-se como um instrumento ideal para a remoção do trombo coronário, minimizando a microembolização aterotrombótica. Verificamos que o tempo isquémico total e a complexidade anatómicas, foram preditores independentes de ineficácia da TAM na reperfusão percutânea. Contudo, verificou-se haver uma interacção significativa entre a eficácia da remoção do trombo epicárdico e a área em risco. Apesar do seu efeito ser modesto na diminuição dos picos enzimáticos, a TAM, se eficaz, reduziu a

a área de enfarte se a AAR fosse superior a 28%. Por outro lado, a utilização da TAm não se revestiu de taxa acrescida de AVC em comparação com a ICP sem TAm.

Numa altura em que a TAm e o PosCond eram promissores na redução da área de enfarte e na melhoria dos resultados clínicos, realizamos um estudo aleatorizado caso-controlo para estudar a sinergia entre a utilização sistemática da TAm acompanhada ou não pelo PosCond isquémico, durante a angioplastia primária. Verificamos não haver diferenças no *endpoint* primário (área abaixo da curva da TnT) nos dois grupos em estudo, o que vai ao encontro dos frustrantes resultados na literatura recente. Adicionalmente, não se verificaram diferenças na FEVE na fase hospitalar e no médio prazo.

Num subestudo dessa série, contudo, identificamos que o sTRAIL uma molécula relacionada com a apoptose mas com efeitos protectores num largo espectro de doença vascular (incluindo em síndromes coronários agudos), se encontra significativamente elevada no plasma de doentes submetidos a PosCond. Adicionalmente, o sTRAIL correlacionou-se negativamente com a FEVE e com a TnT. Desconhecendo-se o mecanismo através do qual o PosCond pode aumentar a actividade plasmática do sTRAIL, é tentador pensar que este estímulo pode de facto influenciar as vias da apoptose celular com potencial impacto positivo em humanos.

No essencial, concluímos que o PosCond acompanhado da TAm falhou em reduzir a área de enfarte. Apesar da miríade de efeitos que influenciam a LIR e as terapêuticas desenhadas para o limitar, este continua a ser um alvo terapêutico primordial com o objectivo último de melhorar o prognóstico a curto e a longo prazo do doente com EAM c/ ST.

Palavras chave: Enfarte do miocárdio; condicionamento isquémico; lesão de isquemia-reperusão.

Although the advances in the therapy of ST-segment elevation myocardial infarction (STEMI) have been substantial, considerable mortality and morbidity are still observed, especially in certain subgroups. Despite the success of reperfusion therapy, patients surviving STEMI may be readmitted due to heart failure. Because infarct size is a major determinant of patients' outcome and given that 40% of final infarct size is thought to be ascribed to reperfusion itself (known as the myocardial reperfusion injury phenomenon – RI), the identification of its determinants and ways to mitigate its effects, have been intensively studied in both the basic and in the clinical fields.

Pre-conditioning is a powerful stimulus able to limit RI. However, this may be limited by large total ischemic time, or even futile in cases of short intervals from symptoms onset to reperfusion. In a contemporary series of STEMI-patients treated by primary angioplasty, we observed that those who had pre-infarct angina (an endogenous stimulus which may replicate pre-conditioning), had less peak TnT, but only for those who had a total ischemic time between 3-6h. Pre-infarct angina had no impact for those presenting below or above that interval. Patients with pre-infarct angina had also better in-hospital left ventricle performance. In addition, we found the effect of pre-infarct angina was more evident in diabetics, whereas its effect was lost for decreasing glomerular filtration rate.

The restoration of coronary epicardial flow is still the main objective of reperfusion in STEMI. By clearing thrombus, early trials of manual thrombectomy improved clinical outcomes. We found that longer ischemic time and complex coronary anatomy were independent predictors for manual thrombectomy to be considered inefficient. Nevertheless, a significant interaction between manual thrombectomy effectiveness and the area at risk was found. Despite its modest effect, manual thrombectomy, if effective, reduced infarct size only for an area at risk above 28%. Importantly, manual thrombectomy did not increase the rate of ischemic stroke as compared to standard percutaneous coronary intervention.

In a time when both post-conditioning (PosCond) and manual thrombectomy were thought to reduce infarct size and to improve patients' outcomes, we conducted a randomized trial to study the impact of PosCond after the routine utilization of thrombus aspiration in both the treatment and in the control group. No difference was

found in the primary endpoint, which was infarct size reduction as assessed by the area under the curve for TnT. Likewise, no difference was found in both the in-hospital or mid-term follow up left ventricle ejection fraction (LVEF).

In a substudy from that series, we observed that the activity of sTRAIL, a pro-apoptotic molecule that is also recognized to have protective and pro-survival properties in the cardiovascular system, (including in the setting of acute coronary syndromes) was significantly higher in the PosCond group. In addition, sTRAIL was negatively correlated to LVEF and TnT. Unknowing the mechanism behind sTRAIL elevation after PosCond, it is tempting to hypothesize that this maneuver may, after all, modulate the apoptotic cascade in patients undergoing reperfusion.

Essentially, we conclude that PosCond after manual thrombus aspiration failed to reduce infarct size. Despite the myriad of factors which influence IR injury and hence its targeting, this is still a very important issue with the ultimate goal to reduce infarct size and to improve prognosis of STEMI-patients.

Key-words: myocardial infarction; ischemic conditioning; myocardial reperfusion injury.

## VII - BIBLIOGRAFIA

1. Moran AE, Forouzanfar MH, Roth GA, et al. Temporal trends in ischemic heart disease mortality in 21 world regions, 1980 to 2010: the Global Burden of Disease 2010 study. *Circulation*. 2014;129(14):1483-1492.
2. Roth GA, Huffman MD, Moran AE, et al. Global and regional patterns in cardiovascular mortality from 1990 to 2013. *Circulation*. 2015;132(17):1667-1678.
3. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2017.
4. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. *Eur. Heart J*. 2016;37(42):3232-3245.
5. Ine.pt. Causas de Morte - 2014 *Statistics Portugal* 2016; [http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine\\_publicacoes&PUBLICACOEspub\\_boui=224786815&PUBLICACOESmodo=2](http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOEspub_boui=224786815&PUBLICACOESmodo=2)
6. PORDATA - Óbitos por algumas causas de morte (%) em Portugal. Pordata.pt. 2016. . <http://www.pordata.pt/Portugal/%C3%93bitos+por+algumas+causas+de+morte+%28percentagem%29-758>
7. Hartley A, Marshall DC, Saliccioli JD, Sikkil MB, Maruthappu M, Shalhoub J. Trends in Mortality From Ischemic Heart Disease and Cerebrovascular Disease in Europe: 1980 to 2009. *Circulation*. 2016;133(20):1916-1926.
8. McManus DD, Gore J, Yarzebski J, Spencer F, Lessard D, Goldberg RJ. Recent trends in the incidence, treatment, and outcomes of patients with STEMI and NSTEMI. *Am. J. Med*. 2011;124(1):40-47.
9. Hall M, Laut K, Dondo TB, et al. Patient and hospital determinants of primary percutaneous coronary intervention in England, 2003-2013. *Heart*. 2016.
10. Steg PG, James SK, Atar D, et al. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur. Heart J*. 2012;33(20):2569-2619.
11. MEMBERS\* WC, O'Gara PT, Kushner FG, et al. 2013 ACCF/AHA Guideline for the Management of ST-Elevation Myocardial Infarction: A Report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2013;127(4):e362-e425.
12. Terkelsen CJ, Sorensen JT, Maeng M, et al. System delay and mortality among patients with STEMI treated with primary percutaneous coronary intervention. *JAMA*. 2010;304(7):763-771.
13. Lassen JF, Botker HE, Terkelsen CJ. Timely and optimal treatment of patients with STEMI. *Nat Rev Cardiol*. 2013;10(1):41-48.
14. Roe MT, Messenger JC, Weintraub WS, et al. Treatments, trends, and outcomes of acute myocardial infarction and percutaneous coronary intervention. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2010;56(4):254-263.

15. Jernberg T, Johanson P, Held C, Svennblad B, Lindback J, Wallentin L. Association between adoption of evidence-based treatment and survival for patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA*. 2011;305(16):1677-1684.
16. Pedersen F, Butrymovich V, Kelbaek H, et al. Short- and long-term cause of death in patients treated with primary PCI for STEMI. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;64(20):2101-2108.
17. Kristensen SD, Laut KG, Fajadet J, et al. Reperfusion therapy for ST elevation acute myocardial infarction 2010/2011: current status in 37 ESC countries. *Eur. Heart J.* 2014;35(29):1957-1970.
18. Peterson ED, Roe MT, Rumsfeld JS, et al. A call to ACTION (acute coronary treatment and intervention outcomes network): a national effort to promote timely clinical feedback and support continuous quality improvement for acute myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2009;2(5):491-499.
19. Masoudi FA, Ponirakis A, Yeh RW, et al. Cardiovascular care facts: a report from the national cardiovascular data registry: 2011. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2013;62(21):1931-1947.
20. Bauters C, Lemesle G, de Groote P, Lamblin N. A systematic review and meta-regression of temporal trends in the excess mortality associated with diabetes mellitus after myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2016;217:109-121.
21. Vavalle JP, van Diepen S, Clare RM, et al. Renal failure in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction treated with primary percutaneous coronary intervention: Predictors, clinical and angiographic features, and outcomes. *Am. Heart J.* 2016;173:57-66.
22. Fach A, Bunger S, Zabrocki R, et al. Comparison of Outcomes of Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Treated by Primary Percutaneous Coronary Intervention Analyzed by Age Groups (<75, 75 to 85, and >85 Years); (Results from the Bremen STEMI Registry). *Am. J. Cardiol.* 2015;116(12):1802-1809.
23. Komocsi A, Simon M, Merkely B, et al. Underuse of coronary intervention and its impact on mortality in the elderly with myocardial infarction. A propensity-matched analysis from the Hungarian Myocardial Infarction Registry. *Int. J. Cardiol.* 2016;214:485-490.
24. Sulo E, Nygard O, Vollset SE, et al. Coronary angiography and myocardial revascularization following the first acute myocardial infarction in Norway during 2001-2009: Analyzing time trends and educational inequalities using data from the CVDNOR project. *Int. J. Cardiol.* 2016;212:122-128.
25. Benamer H, Tafflet M, Bataille S, et al. Female gender is an independent predictor of in-hospital mortality after STEMI in the era of primary PCI: insights from the greater Paris area PCI Registry. *EuroIntervention*. 2011;6(9):1073-1079.
26. Cale R, de Sousa L, Pereira H, Costa M, de Sousa Almeida M. [Primary angioplasty in women: Data from the Portuguese Registry of Interventional Cardiology]. *Rev. Port. Cardiol.* 2014;33(6):353-361.
27. Shah RU, de Lemos JA, Wang TY, et al. Post-Hospital Outcomes of Patients With Acute Myocardial Infarction With Cardiogenic Shock: Findings From the NCDR. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(7):739-747.



28. Wayangankar SA, Bangalore S, McCoy LA, et al. Temporal Trends and Outcomes of Patients Undergoing Percutaneous Coronary Interventions for Cardiogenic Shock in the Setting of Acute Myocardial Infarction: A Report From the CathPCI Registry. *JACC Cardiovasc Interv.* 2016;9(4):341-351.
29. Dores H, Ferreira J, Costa F, et al. [Acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: what changed over a 10-year time span?]. *Rev. Port. Cardiol.* 2013;32(9):673-680.
30. Velagaleti RS, Pencina MJ, Murabito JM, et al. Long-term trends in the incidence of heart failure after myocardial infarction. *Circulation.* 2008;118(20):2057-2062.
31. Torabi A, Cleland JG, Khan NK, et al. The timing of development and subsequent clinical course of heart failure after a myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2008;29(7):859-870.
32. Eapen ZJ, Tang WH, Felker GM, et al. Defining heart failure end points in ST-segment elevation myocardial infarction trials: integrating past experiences to chart a path forward. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes.* 2012;5(4):594-600.
33. Chen J, Hsieh AF, Dharmarajan K, Masoudi FA, Krumholz HM. National trends in heart failure hospitalization after acute myocardial infarction for Medicare beneficiaries: 1998-2010. *Circulation.* 2013;128(24):2577-2584.
34. Kim JH, Chae SC, Oh DJ, et al. Multicenter Cohort Study of Acute Myocardial Infarction in Korea- Interim Analysis of the Korea Acute Myocardial Infarction Registry-National Institutes of Health Registry. *Circ. J.* 2016.
35. Doost Hosseiny A, Moloji S, Chandrasekhar J, Farshid A. Mortality pattern and cause of death in a long-term follow-up of patients with STEMI treated with primary PCI. *Open Heart.* 2016;3(1):e000405.
36. Plakht Y, Gilutz H, Shiyovich A. Temporal trends in acute myocardial infarction: What about survival of hospital survivors? Disparities between STEMI & NSTEMI remain. Soroka acute myocardial infarction II (SAMI-II) project. *Int. J. Cardiol.* 2016;203:1073-1081.
37. Pedersen F, Butrymovich V, Kelbæk H, et al. Short- and Long-Term Cause of Death in Patients Treated With Primary PCI for STEMI. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;64(20):2101-2108.
38. Mello BHGd, Oliveira GBF, Ramos RF, et al. Validation of the Killip-Kimball Classification and Late Mortality after Acute Myocardial Infarction. *Arq. Bras. Cardiol.* 2014.
39. Callender T, Woodward M, Roth G, et al. Heart failure care in low- and middle-income countries: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med.* 2014;11(8):e1001699.
40. Nieminen MS, Brutsaert D, Dickstein K, et al. EuroHeart Failure Survey II (EHFS II): a survey on hospitalized acute heart failure patients: description of population. *Eur. Heart J.* 2006;27(22):2725-2736.
41. Stone GW, Selker HP, Thiele H, et al. Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI: Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(14):1674-1683.
42. Carrick D, Haig C, Rauhalammi S, et al. Pathophysiology of LV Remodeling in Survivors of STEMI: Inflammation, Remote Myocardium, and Prognosis. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2015;8(7):779-789.

43. Braunwald E. The treatment of acute myocardial infarction: the Past, the Present, and the Future. *European heart journal. Acute cardiovascular care.* 2012;1(1):9-12.
44. Teixeira R, Goncalves L, Gersh B. Acute myocardial infarction--historical notes. *Int. J. Cardiol.* 2013;167(5):1825-1834.
45. Pardee HB. An electrocardiographic sign of coronary artery obstruction. *Arch. Intern. Med.* 1920;26(2):244-257.
46. Jennings RB, Wartman WB. Production of an area of homogeneous myocardial infarction in the dog. *A.M.A. archives of pathology.* 1957;63(6):580-585.
47. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977;56(5):786-794.
48. Reimer KA, Jennings RB. The "wavefront phenomenon" of myocardial ischemic cell death. II. Transmural progression of necrosis within the framework of ischemic bed size (myocardium at risk) and collateral flow. *Lab. Invest.* 1979;40(6):633-644.
49. DeBoer LW, Rude RE, Kloner RA, et al. A flow- and time-dependent index of ischemic injury after experimental coronary occlusion and reperfusion. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1983;80(18):5784-5788.
50. DeWood MA, Spores J, Notske R, et al. Prevalence of total coronary occlusion during the early hours of transmural myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1980;303(16):897-902.
51. Ruesegger P, Nydick I, Hutter RC, et al. Fibrinolytic (plasmin) therapy of experimental coronary thrombi with alteration of the evolution of myocardial infarction. *Circulation.* 1959;19(1):7-13.
52. Chazov EI, Matveeva LS, Mazaev AV, Sargin KE, Sadovskaia GV, Ruda MI. [Intracoronary administration of fibrinolysin in acute myocardial infarct]. *Ter. Arkh.* 1976;48(4):8-19.
53. Rentrop KP, Blanke H, Karsch KR, Kreuzer H. Initial experience with transluminal recanalization of the recently occluded infarct-related coronary artery in acute myocardial infarction -- comparison with conventionally treated patients. *Clin. Cardiol.* 1979;2(2):92-105.
54. Rentrop P, Blanke H, Karsch KR, Kaiser H, Kostering H, Leitz K. Selective intracoronary thrombolysis in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. *Circulation.* 1981;63(2):307-317.
55. Schroder R, Biamino G, von Leitner ER, et al. Intravenous short-term infusion of streptokinase in acute myocardial infarction. *Circulation.* 1983;67(3):536-548.
56. Anderson JL, Marshall HW, Bray BE, et al. A randomized trial of intracoronary streptokinase in the treatment of acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1983;308(22):1312-1318.
57. Hartzler GO, Rutherford BD, McConahay DR, et al. Percutaneous transluminal coronary angioplasty with and without thrombolytic therapy for treatment of acute myocardial infarction. *Am. Heart J.* 1983;106(5 Pt 1):965-973.
58. Ribeiro EE, Silva LA, Carneiro R, et al. Randomized trial of direct coronary angioplasty versus intravenous streptokinase in acute myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993;22(2):376.

59. Simoons ML, Serruys PW, vd Brand M, et al. Improved survival after early thrombolysis in acute myocardial infarction. A randomised trial by the Interuniversity Cardiology Institute in The Netherlands. *Lancet*. 1985;2(8455):578-582.
60. White HD, Norris RM, Brown MA, et al. Effect of intravenous streptokinase on left ventricular function and early survival after acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 1987;317(14):850-855.
61. Yusuf S, Collins R, Peto R, et al. Intravenous and intracoronary fibrinolytic therapy in acute myocardial infarction: Overview of results on mortality, reinfarction and side-effects from 33 randomized controlled trials. *Eur. Heart J.* 1985;6(7):556-585.
62. Antman E. ST-segment elevation myocardial infarction: management. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*. Vol 2. 8th ed: Saunders/Elsevier; 2008:1241.
63. Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico (GISSI). *Lancet*. 1986;1(8478):397-402.
64. Boersma E, Maas AC, Deckers JW, Simoons ML. Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour. *Lancet*. 1996;348(9030):771-775.
65. A comparison of reteplase with alteplase for acute myocardial infarction. The Global Use of Strategies to Open Occluded Coronary Arteries (GUSTO III) Investigators. *N. Engl. J. Med.* 1997;337(16):1118-1123.
66. Van De Werf F, Adgey J, Ardissino D, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet*. 1999;354(9180):716-722.
67. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet*. 1988;2(8607):349-360.
68. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, et al. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N. Engl. J. Med.* 2005;352(12):1179-1189.
69. Grines CL, Browne KF, Marco J, et al. A comparison of immediate angioplasty with thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. The Primary Angioplasty in Myocardial Infarction Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1993;328(10):673-679.
70. Grines C, Patel A, Zijlstra F, Weaver WD, Granger C, Simes RJ. Primary coronary angioplasty compared with intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: six-month follow up and analysis of individual patient data from randomized trials. *Am. Heart J.* 2003;145(1):47-57.
71. Schomig A, Kastrati A, Dirschinger J, et al. Coronary stenting plus platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade compared with tissue plasminogen activator in acute myocardial infarction. Stent versus Thrombolysis for Occluded Coronary Arteries in Patients with Acute Myocardial Infarction Study Investigators. *N. Engl. J. Med.* 2000;343(6):385-391.
72. Zhu MM, Feit A, Chadow H, Alam M, Kwan T, Clark LT. Primary stent implantation compared with primary balloon angioplasty for acute myocardial

- infarction: a meta-analysis of randomized clinical trials. *Am. J. Cardiol.* 2001;88(3):297-301.
73. Stone GW, Grines CL, Cox DA, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N. Engl. J. Med.* 2002;346(13):957-966.
  74. Keeley EC, Boura JA, Grines CL. Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet.* 2003;361(9351):13-20.
  75. Pereira H, Campante Teles R, Costa M, et al. Trends in primary angioplasty in Portugal from 2002 to 2013 according to the Portuguese National Registry of Interventional Cardiology. *Rev. Port. Cardiol.* 2016;35(7-8):395-404.
  76. Denktas AE, Anderson HV, McCarthy J, Smalling RW. Total ischemic time: the correct focus of attention for optimal ST-segment elevation myocardial infarction care. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011;4(6):599-604.
  77. Zarrabi A, Eftekhari H, Casscells SW, Madjid M. The Open-Artery Hypothesis Revisited. *Tex. Heart Inst. J.* 2006;33(3):345-352.
  78. Braunwald E. Myocardial reperfusion, limitation of infarct size, reduction of left ventricular dysfunction, and improved survival. Should the paradigm be expanded? *Circulation.* 1989;79(2):441-444.
  79. Hassan AK, Bergheanu SC, Hasan-Ali H, et al. Usefulness of peak troponin-T to predict infarct size and long-term outcome in patients with first acute myocardial infarction after primary percutaneous coronary intervention. *Am. J. Cardiol.* 2009;103(6):779-784.
  80. Giannitsis E, Steen H, Kurz K, et al. Cardiac magnetic resonance imaging study for quantification of infarct size comparing directly serial versus single time-point measurements of cardiac troponin T. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008;51(3):307-314.
  81. Reinstadler SJ, Feistritzer HJ, Klug G, et al. High-sensitivity troponin T for prediction of left ventricular function and infarct size one year following ST-elevation myocardial infarction. *Int. J. Cardiol.* 2016;202:188-193.
  82. Byrne RA, Ndrepepa G, Braun S, et al. Peak cardiac troponin-T level, scintigraphic myocardial infarct size and one-year prognosis in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *Am. J. Cardiol.* 2010;106(9):1212-1217.
  83. Boden H, Ahmed TA, Velders MA, et al. Peak and fixed-time high-sensitive troponin for prediction of infarct size, impaired left ventricular function, and adverse outcomes in patients with first ST-segment elevation myocardial infarction receiving percutaneous coronary intervention. *Am. J. Cardiol.* 2013;111(10):1387-1393.
  84. Baine KR, Patel MR, Armstrong PW. Evaluation of Cardiac Magnetic Resonance as a Surrogate in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Am. J. Cardiol.* 2015;115(11):1607-1614.
  85. The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N. Engl. J. Med.* 1985;312(14):932-936.
  86. Chesebro JH, Knatterud G, Roberts R, et al. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial, Phase I: A comparison between intravenous tissue plasminogen activator and intravenous streptokinase. Clinical findings through hospital discharge. *Circulation.* 1987;76(1):142-154.

87. Simes RJ, Topol EJ, Holmes DR, Jr., et al. Link between the angiographic substudy and mortality outcomes in a large randomized trial of myocardial reperfusion. Importance of early and complete infarct artery reperfusion. GUSTO-I Investigators. *Circulation*. 1995;91(7):1923-1928.
88. Roe MT, Ohman EM, Maas AC, et al. Shifting the open-artery hypothesis downstream: the quest for optimal reperfusion. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001;37(1):9-18.
89. Ito H, Tomooka T, Sakai N, et al. Lack of myocardial perfusion immediately after successful thrombolysis. A predictor of poor recovery of left ventricular function in anterior myocardial infarction. *Circulation*. 1992;85(5):1699-1705.
90. van 't Hof AW, Liem A, Suryapranata H, Hoorntje JC, de Boer MJ, Zijlstra F. Angiographic assessment of myocardial reperfusion in patients treated with primary angioplasty for acute myocardial infarction: myocardial blush grade. Zwolle Myocardial Infarction Study Group. *Circulation*. 1998;97(23):2302-2306.
91. Brener SJ, Cristea E, Lansky AJ, Fahy M, Mehran R, Stone GW. Operator versus core laboratory assessment of angiographic reperfusion markers in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment-elevation myocardial infarction. *Circ Cardiovasc Interv.* 2012;5(4):563-569.
92. Farkouh ME, Reiffel J, Dressler O, et al. Relationship between ST-segment recovery and clinical outcomes after primary percutaneous coronary intervention: the HORIZONS-AMI ECG substudy report. *Circ Cardiovasc Interv.* 2013;6(3):216-223.
93. Lincoff AM, Topol EJ. Illusion of reperfusion. Does anyone achieve optimal reperfusion during acute myocardial infarction? *Circulation*. 1993;88(3):1361-1374.
94. van Kranenburg M, Magro M, Thiele H, et al. Prognostic value of microvascular obstruction and infarct size, as measured by CMR in STEMI patients. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2014;7(9):930-939.
95. McGeoch R, Watkins S, Berry C, et al. The index of microcirculatory resistance measured acutely predicts the extent and severity of myocardial infarction in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Interv.* 2010;3(7):715-722.
96. De Maria GL, Fahrni G, Alkhalil M, et al. A tool for predicting the outcome of reperfusion in ST-elevation myocardial infarction using age, thrombotic burden and index of microcirculatory resistance (ATI score). *EuroIntervention*. 2016;12(10):1223-1230.
97. Heusch G, Kleinbongard P, Bose D, et al. Coronary microembolization: from bedside to bench and back to bedside. *Circulation*. 2009;120(18):1822-1836.
98. Heusch G. The Coronary Circulation as a Target of Cardioprotection. *Circ. Res.* 2016;118(10):1643-1658.
99. Heusch G, Gersh BJ. The pathophysiology of acute myocardial infarction and strategies of protection beyond reperfusion: a continual challenge. *Eur. Heart J.* 2016.
100. Jennings RB. Historical perspective on the pathology of myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circ. Res.* 2013;113(4):428-438.

101. Vander Heide RS, Angelo JP, Altschuld RA, Ganote CE. Energy dependence of contraction band formation in perfused hearts and isolated adult myocytes. *Am. J. Pathol.* 1986;125(1):55-68.
102. Braunwald E, Kloner RA. Myocardial reperfusion: a double-edged sword? *J. Clin. Invest.* 1985;76(5):1713-1719.
103. Kloner RA. Does reperfusion injury exist in humans? *J. Am. Coll. Cardiol.* 1993;21(2):537-545.
104. Ibanez B, Heusch G, Ovize M, Van de Werf F. Evolving therapies for myocardial ischemia/reperfusion injury. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2015;65(14):1454-1471.
105. Piper HM, Garcia-Dorado D, Ovize M. A fresh look at reperfusion injury. *Cardiovasc. Res.* 1998;38(2):291-300.
106. Prasad A, Stone GW, Holmes DR, Gersh B. Reperfusion injury, microvascular dysfunction, and cardioprotection: the "dark side" of reperfusion. *Circulation.* 2009;120(21):2105-2112.
107. Yellon DM, Hausenloy DJ. Myocardial reperfusion injury. *N. Engl. J. Med.* 2007;357(11):1121-1135.
108. Hausenloy DJ, Yellon DM. Myocardial ischemia-reperfusion injury: a neglected therapeutic target. *J. Clin. Invest.* 2013;123(1):92-100.
109. Schwartz BG, Kloner RA. Coronary no reflow. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2012;52(4):873-882.
110. Kloner RA, Ganote CE, Jennings RB. The "no-reflow" phenomenon after temporary coronary occlusion in the dog. *J. Clin. Invest.* 1974;54(6):1496-1508.
111. Reffelmann T, Kloner RA. The no-reflow phenomenon: A basic mechanism of myocardial ischemia and reperfusion. *Basic Res. Cardiol.* 2006;101(5):359-372.
112. Niccoli G, Burzotta F, Galiuto L, Crea F. Myocardial no-reflow in humans. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2009;54(4):281-292.
113. Rezkalla SH, Stankowski RV, Hanna J, Kloner RA. Management of No-Reflow Phenomenon in the Catheterization Laboratory. *JACC Cardiovasc Interv.* 2017;10(3):215-223.
114. Bouleti C, Mewton N, Germain S. The no-reflow phenomenon: State of the art. *Arch Cardiovasc Dis.* 2015;108(12):661-674.
115. Nazir SA, McCann GP, Greenwood JP, et al. Strategies to attenuate microvascular obstruction during P-PCI: the randomized reperfusion facilitated by local adjunctive therapy in ST-elevation myocardial infarction trial. *Eur. Heart J.* 2016;37(24):1910-1919.
116. Vrints CJ, Haine SE. Prevention of coronary microvascular plugging: the next target in STEMI? *EuroIntervention.* 2016;12(10):1201-1202.
117. Stone GW, Maehara A, Witzenbichler B, et al. Intracoronary abciximab and aspiration thrombectomy in patients with large anterior myocardial infarction: the INFUSE-AMI randomized trial. *JAMA.* 2012;307(17):1817-1826.
118. Carrick D, Oldroyd KG, McEntegart M, et al. A Randomized Trial of Deferred Stenting Versus Immediate Stenting to Prevent No- or Slow-Reflow in Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction (DEFER-STEMI). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63(20):2088-2098.

119. Kelbæk H, Høfsten DE, Køber L, et al. Deferred versus conventional stent implantation in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (DANAMI 3-DEFER): an open-label, randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10034):2199-2206.
120. Svilaas T, Vlaar PJ, van der Horst IC, et al. Thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention. *N. Engl. J. Med.* 2008;358(6):557-567.
121. Burzotta F, De Vita M, Gu YL, et al. Clinical impact of thrombectomy in acute ST-elevation myocardial infarction: an individual patient-data pooled analysis of 11 trials. *Eur. Heart J.* 2009;30(18):2193-2203.
122. De Luca G, Dudek D, Sardella G, Marino P, Chevalier B, Zijlstra F. Adjunctive manual thrombectomy improves myocardial perfusion and mortality in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *Eur. Heart J.* 2008;29(24):3002-3010.
123. Noman A, Egred M, Bagnall A, Spyridopoulos I, Jamieson S, Ahmed J. Impact of thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention on mortality in ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2012;33(24):3054-3061.
124. Jolly SS, Cairns JA, Yusuf S, et al. Randomized trial of primary PCI with or without routine manual thrombectomy. *N. Engl. J. Med.* 2015;372(15):1389-1398.
125. Sharma V, Jolly SS, Hamid T, et al. Myocardial blush and microvascular reperfusion following manual thrombectomy during percutaneous coronary intervention for ST elevation myocardial infarction: insights from the TOTAL trial. *Eur. Heart J.* 2016.
126. Stone GW, Witzenbichler B, Godlewski J, et al. Intralesional abciximab and thrombus aspiration in patients with large anterior myocardial infarction: one-year results from the INFUSE-AMI trial. *Circ Cardiovasc Interv.* 2013;6(5):527-534.
127. Calais F, Lagerqvist B, Leppert J, James SK, Frobert O. Thrombus aspiration in patients with large anterior myocardial infarction: A Thrombus Aspiration in ST-Elevation myocardial infarction in Scandinavia trial substudy. *Am. Heart J.* 2016;172:129-134.
128. Higuma T, Soeda T, Yamada M, et al. Does Residual Thrombus After Aspiration Thrombectomy Affect the Outcome of Primary PCI in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction?: An Optical Coherence Tomography Study. *JACC Cardiovasc Interv.* 2016;9(19):2002-2011.
129. Bhindi R, Kajander OA, Jolly SS, et al. Culprit lesion thrombus burden after manual thrombectomy or percutaneous coronary intervention-alone in ST-segment elevation myocardial infarction: the optical coherence tomography sub-study of the TOTAL (ThrOmbecTomy versus PCI ALone) trial. *Eur. Heart J.* 2015;36(29):1892-1900.
130. Reimer KA, Lowe JE, Rasmussen MM, Jennings RB. The wavefront phenomenon of ischemic cell death. 1. Myocardial infarct size vs duration of coronary occlusion in dogs. *Circulation.* 1977;56(5):786-794.



131. Bell RM, Botker HE, Carr RD, et al. 9th Hatter Biannual Meeting: position document on ischaemia/reperfusion injury, conditioning and the ten commandments of cardioprotection. *Basic Res. Cardiol.* 2016;111(4):41.
132. Chen-Scarabelli C, Agrawal PR, Saravolatz L, et al. The role and modulation of autophagy in experimental models of myocardial ischemia-reperfusion injury. *J Geriatr Cardiol.* 2014;11(4):338-348.
133. Halestrap AP. A pore way to die: the role of mitochondria in reperfusion injury and cardioprotection. *Biochem. Soc. Trans.* 2010;38(4):841-860.
134. Ong SB, Samangouei P, Kalkhoran SB, Hausenloy DJ. The mitochondrial permeability transition pore and its role in myocardial ischemia reperfusion injury. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2015;78:23-34.
135. Skyschally A, Schulz R, Heusch G. Cyclosporine A at reperfusion reduces infarct size in pigs. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 2010;24(1):85-87.
136. Botker HE. Mitochondrial care in acute myocardial infarction. *Eur. Heart J.* 2015;36(2):77-79.
137. Liu J, Wang H, Li J. Inflammation and Inflammatory Cells in Myocardial Infarction and Reperfusion Injury: A Double-Edged Sword. *Clin Med Insights Cardiol.* 2016;10:79-84.
138. Ndrepepa G. Improving myocardial injury, infarct size, and myocardial salvage in the era of primary PCI for STEMI. *Coron. Artery Dis.* 2015;26(4):341-355.
139. Hausenloy DJ, Yellon DM. Ischaemic conditioning and reperfusion injury. *Nat Rev Cardiol.* 2016;13(4):193-209.
140. Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. *Circulation.* 1986;74(5):1124-1136.
141. Kloner RA, Jennings RB. Consequences of Brief Ischemia: Stunning, Preconditioning, and Their Clinical Implications: Part 2. *Circulation.* 2001;104(25):3158-3167.
142. Kloner RA, Shook T, Przyklenk K, et al. Previous angina alters in-hospital outcome in TIMI 4. A clinical correlate to preconditioning? *Circulation.* 1995;91(1):37-45.
143. Luz A, Santos M, Rodrigues P, et al. Preinfarction angina: clinical significance and relationship with total ischemic time in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Coron. Artery Dis.* 2015;26(1):22-29.
144. Reiter R, Henry TD, Traverse JH. Preinfarction angina reduces infarct size in ST-elevation myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv.* 2013;6(1):52-58.
145. Lonborg J, Kelbaek H, Vejstrup N, et al. Influence of pre-infarction angina, collateral flow, and pre-procedural TIMI flow on myocardial salvage index by cardiac magnetic resonance in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2012;13(5):433-443.
146. Masci PG, Andreini D, Francone M, et al. Prodromal angina is associated with myocardial salvage in acute ST-segment elevation myocardial infarction. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging.* 2013;14(11):1041-1048.
147. Carbone I, Friedrich MG. Myocardial edema imaging by cardiovascular magnetic resonance: current status and future potential. *Curr. Cardiol. Rep.* 2012;14(1):1-6.

148. Marber MS, Latchman DS, Walker JM, Yellon DM. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia or heat stress is associated with resistance to myocardial infarction. *Circulation*. 1993;88(3):1264-1272.
149. Schmidt M, Horvath-Puho E, Pedersen L, Sorensen HT, Botker HE. Time-dependent effect of preinfarction angina pectoris and intermittent claudication on mortality following myocardial infarction: A Danish nationwide cohort study. *Int. J. Cardiol*. 2015;187:462-469.
150. Lee Y, Gustafsson AB. Role of apoptosis in cardiovascular disease. *Apoptosis*. 2009;14(4):536-548.
151. Piot CA, Wolfe CL. Apoptosis: A New Mechanism of Lethal Myocardial "Reperfusion Injury"? *J. Thromb. Thrombolysis*. 1997;4(1):67-68.
152. Zhao Z-Q, Nakamura M, Wang N-P, et al. *Reperfusion induces myocardial apoptotic cell death*. Vol 452000.
153. Freude B, Masters TN, Robicsek F, et al. Apoptosis is Initiated by Myocardial Ischemia and Executed During Reperfusion. *J. Mol. Cell. Cardiol.*;32(2):197-208.
154. Zhao ZQ, Velez DA, Wang NP, et al. Progressively developed myocardial apoptotic cell death during late phase of reperfusion. *Apoptosis*. 2001;6(4):279-290.
155. Zhao ZQ, Vinten-Johansen J. Myocardial apoptosis and ischemic preconditioning. *Cardiovasc. Res*. 2002;55(3):438-455.
156. Heusch G. Molecular basis of cardioprotection: signal transduction in ischemic pre-, post-, and remote conditioning. *Circ. Res*. 2015;116(4):674-699.
157. Hausenloy DJ, Yellon DM. Preconditioning and postconditioning: united at reperfusion. *Pharmacol. Ther*. 2007;116(2):173-191.
158. 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):H579-588.
159. Staat P, Rioufol G, Piot C, et al. Postconditioning the human heart. *Circulation*. 2005;112(14):2143-2148.
160. 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):2175-2181.
161. 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):103-112.
162. 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):33-38.
163. 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):482-490.
164. Hahn JY, Song YB, Kim EK, et al. Ischemic postconditioning during primary percutaneous coronary intervention: the effects of postconditioning on myocardial reperfusion in patients with ST-segment elevation myocardial infarction (POST) randomized trial. *Circulation*. 2013;128(17):1889-1896.

165. 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):946-952.
166. Gao J, Luo J, Liu F, et al. Short-and long-term effects of ischemic postconditioning in STEMI patients: a meta-analysis. *Lipids Health Dis.* 2015;14:147.
167. Kin H, Zhao ZQ, Sun HY, et al. Postconditioning attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury by inhibiting events in the early minutes of reperfusion. *Cardiovasc. Res.* 2004;62(1):74-85.
168. Roubille F, Franck-Miclo A, Covinhes A, et al. Delayed Postconditioning in the Mouse Heart In Vivo. *Circulation.* 2011;124(12):1330-1336.
169. Roubille F, Mewton N, Elbaz M, et al. No post-conditioning in the human heart with thrombolysis in myocardial infarction flow 2-3 on admission. *Eur. Heart J.* 2014;35(25):1675-1682.
170. Limalanathan S, Andersen GO, Klow NE, Abdelnoor M, Hoffmann P, Eritsland J. Effect of ischemic postconditioning on infarct size in patients with ST-elevation myocardial infarction treated by primary PCI results of the POSTEMI (POstconditioning in ST-Elevation Myocardial Infarction) randomized trial. *J Am Heart Assoc.* 2014;3(2):e000679.
171. Engstrom T, Kelbaek H, Helqvist S, et al. Effect of Ischemic Postconditioning During Primary Percutaneous Coronary Intervention for Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: A Randomized Clinical Trial. *JAMA cardiology.* 2017.
172. Mentias A, Mahmoud AN, Elgendy IY, et al. Ischemic postconditioning during primary percutaneous coronary intervention. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2017:n/a-n/a.
173. Przyklenk K, Bauer B, Ovize M, Kloner RA, Whittaker P. Regional ischemic 'preconditioning' protects remote virgin myocardium from subsequent sustained coronary occlusion. *Circulation.* 1993;87(3):893-899.
174. Gho BC, Schoemaker RG, van den Doel MA, Duncker DJ, Verdouw PD. Myocardial protection by brief ischemia in noncardiac tissue. *Circulation.* 1996;94(9):2193-2200.
175. Pickard JM, Botker HE, Crimi G, et al. Remote ischemic conditioning: from experimental observation to clinical application: report from the 8th Biennial Hatter Cardiovascular Institute Workshop. *Basic Res. Cardiol.* 2015;110(1):453.
176. 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):727-734.
177. 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):168-175.
178. White SK, Frohlich GM, Sado DM, et al. Remote ischemic conditioning reduces myocardial infarct size and edema in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *JACC Cardiovasc Interv.* 2015;8(1 Pt B):178-188.

179. Crimi G, Pica S, Raineri C, et al. Remote ischemic post-conditioning of the lower limb during primary percutaneous coronary intervention safely reduces enzymatic infarct size in anterior myocardial infarction: a randomized controlled trial. *JACC Cardiovasc Interv.* 2013;6(10):1055-1063.
180. Eitel I, Stiermaier T, Rommel KP, et al. Cardioprotection by combined intrahospital remote ischaemic preconditioning and postconditioning in ST-elevation myocardial infarction: the randomized LIPSIA CONDITIONING trial. *Eur. Heart J.* 2015;36(44):3049-3057.
181. Gaspar A, Pereira MA, Azevedo P, Lourenco A, Marques J, Leite-Moreira A. Remote ischemic conditioning in ST-elevation myocardial infarction as adjuvant to primary angioplasty (RIC-STEMI): study protocol for a randomized controlled trial. *Trials.* 2015;16:398.
182. Hausenloy DJ, Kharbanda R, Rahbek Schmidt M, et al. Effect of remote ischaemic conditioning on clinical outcomes in patients presenting with an ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2015;36(29):1846-1848.
183. Sivaraman V, Yellon DM. Pharmacologic therapy that simulates conditioning for cardiac ischemic/reperfusion injury. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2014;19(1):83-96.
184. Cung TT, Morel O, Cayla G, et al. Cyclosporine before PCI in Patients with Acute Myocardial Infarction. *N. Engl. J. Med.* 2015;373(11):1021-1031.
185. Gibson CM, Giugliano RP, Kloner RA, et al. EMBRACE STEMI study: a Phase 2a trial to evaluate the safety, tolerability, and efficacy of intravenous MTP-131 on reperfusion injury in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Eur. Heart J.* 2016;37(16):1296-1303.
186. Atar D, Arheden H, Berdeaux A, et al. Effect of intravenous TRO40303 as an adjunct to primary percutaneous coronary intervention for acute ST-elevation myocardial infarction: MITOCARE study results. *Eur. Heart J.* 2015;36(2):112-119.
187. 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):288-295.
188. 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):1483-1493.
189. Pizarro G, Fernandez-Friera L, Fuster V, et al. Long-term benefit of early pre-reperfusion metoprolol administration in patients with acute myocardial infarction: results from the METOCARD-CNIC trial (Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction). *J. Am. Coll. Cardiol.* 2014;63(22):2356-2362.
190. Ibanez B, Macaya C, Sanchez-Brunete V, et al. Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Circulation.* 2013;128(14):1495-1503.
191. Roolvink V, Ibanez B, Ottervanger JP, et al. Early Intravenous Beta-Blockers in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Before Primary

- Percutaneous Coronary Intervention. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(23):2705-2715.
192. Rentoukas I, Giannopoulos G, Kaoukis A, et al. Cardioprotective role of remote ischemic preconditioning in primary percutaneous coronary intervention: enhancement by opioid action. *JACC Cardiovasc Interv.* 2010;3(1):49-55.
  193. Pasupathy S. The early use of N-acetylcysteine (NAC) with Glyceryl Trinitrate (GTN) in STEMI NACIAM Trial: A pilot study. European Society of Cardiology, Rome, Italy 2016.
  194. Taniguchi T, Shiomi H, Toyota T, et al. Effect of preinfarction angina pectoris on long-term survival in patients with ST-segment elevation myocardial infarction who underwent primary percutaneous coronary intervention. *Am. J. Cardiol.* 2014;114(8):1179-1186.
  195. Niccoli G, Scalone G, Cosentino N, et al. Protective effect of pre-infarction angina on microvascular obstruction after primary percutaneous coronary intervention is blunted in humans by cardiovascular risk factors. *Circ. J.* 2014;78(8):1935-1941.
  196. Lejay A, Fang F, John R, et al. Ischemia reperfusion injury, ischemic preconditioning and diabetes mellitus. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2016;91:11-22.
  197. Meeting Abstracts Ischemic conditioning and targeting reperfusion injury: a 30 year voyage of discovery, May 12th - 13th, 2016, Barcelona. *J. Mol. Cell. Cardiol.*;97:1-18.
  198. Luz A, Rodrigues P, Sousa MJ, et al. Thrombus aspiration for reperfusion in myocardial infarction: Predictors and clinical impact of ineffectiveness. *Rev. Port. Cardiol.* 2014;33(12):753-760.
  199. Luz A, Silveira I, Brochado B, et al. Manual thrombectomy efficiency in relationship to the area at risk in patients with myocardial infarction with TIMI 0-1 coronary flow: Insights from an all comers registry.
  200. Luz A, Santos M, Magalhaes R, et al. Lack of Benefit of Ischemic Postconditioning After Routine Thrombus Aspiration During Reperfusion: Immediate and Midterm Results. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.* 2015;20(6):523-531.
  201. Yetgin T, van Kranenburg M, ten Cate T, et al. Ischemic postconditioning after routine thrombus aspiration during primary percutaneous coronary intervention: Rationale and design of the POstconditioning Rotterdam trial. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 2015:n/a-n/a.
  202. Forde H, Harper E, Davenport C, et al. The beneficial pleiotropic effects of tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) within the vasculature: A review of the evidence. *Atherosclerosis.* 2016;247:87-96.
  203. Secchiero P, Corallini F, Ceconi C, et al. Potential prognostic significance of decreased serum levels of TRAIL after acute myocardial infarction. *PLoS ONE.* 2009;4(2):e4442.
  204. Osmancik P, Teringova E, Tousek P, Paulu P, Widimsky P. Prognostic value of TNF-related apoptosis inducing ligand (TRAIL) in acute coronary syndrome patients. *PLoS ONE.* 2013;8(2):e53860.
  205. Luz A, Santos M, Magalhaes R, et al. Soluble TNF-related apoptosis induced ligand (sTRAIL) is augmented by Post-Conditioning and correlates to infarct

- size and left ventricle dysfunction in STEMI patients: a substudy from a randomized clinical trial. *Heart Vessels*. 2017;32(2):117-125.
206. Secchiero P, Gonelli A, Corallini F, Ceconi C, Ferrari R, Zauli G. Metalloproteinase 2 cleaves in vitro recombinant TRAIL: potential implications for the decreased serum levels of TRAIL after acute myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2010;211(1):333-336.
  207. Fordyce CB, Gersh BJ, Stone GW, Granger CB. Novel therapeutics in myocardial infarction: targeting microvascular dysfunction and reperfusion injury. *Trends Pharmacol. Sci*. 2015;36(9):605-616.
  208. Hausenloy DJ, Yellon DM. Targeting Myocardial Reperfusion Injury — The Search Continues. *N. Engl. J. Med*. 2015;373(11):1073-1075.
  209. Hausenloy DJ, Botker HE, Engstrom T, et al. Targeting reperfusion injury in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: trials and tribulations. *Eur. Heart J*. 2016.
  210. Ferdinandy P, Hausenloy DJ, Heusch G, Baxter GF, Schulz R. Interaction of risk factors, comorbidities, and comedications with ischemia/reperfusion injury and cardioprotection by preconditioning, postconditioning, and remote conditioning. *Pharmacol. Rev*. 2014;66(4):1142-1174.
  211. Lecour S, Botker HE, Condorelli G, et al. ESC working group cellular biology of the heart: position paper: improving the preclinical assessment of novel cardioprotective therapies. *Cardiovasc. Res*. 2014;104(3):399-411.
  212. Jones SP, Tang XL, Guo Y, et al. The NHLBI-sponsored Consortium for preclinical assessment of cardioprotective therapies (CAESAR): a new paradigm for rigorous, accurate, and reproducible evaluation of putative infarct-sparing interventions in mice, rabbits, and pigs. *Circ. Res*. 2015;116(4):572-586.
  213. Lefer DJ, Bolli R. Development of an NIH consortium for preclinical Assessment of Cardioprotective therapies (CAESAR): a paradigm shift in studies of infarct size limitation. *J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther*. 2011;16(3-4):332-339.
  214. Miura T, Miki T. Limitation of myocardial infarct size in the clinical setting: current status and challenges in translating animal experiments into clinical therapy. *Basic Res. Cardiol*. 2008;103(6):501-513.
  215. Bulluck H, Hammond-Haley M, Weinmann S, Martinez-Macias R, Hausenloy DJ. Myocardial Infarct Size by CMR in Clinical Cardioprotection Studies: Insights From Randomized Controlled Trials. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2017;10(3):230-240.
  216. Heusch G. CIRCUS: a kiss of death for cardioprotection? *Cardiovasc. Res*. 2015;108(2):215-216.
  217. Monassier L, Ayme-Dietrich E, Aubertin-Kirch G, Pathak A. Targeting myocardial reperfusion injuries with cyclosporine in the CIRCUS Trial - pharmacological reasons for failure. *Fundam. Clin. Pharmacol*. 2016;30(2):191-193.
  218. Ottani F, Latini R, Staszewsky L, et al. Cyclosporine A in Reperfused Myocardial Infarction The Multicenter, Controlled, Open-Label CYCLE Trial. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2016;67(4):365-374.

219. Heusch G, Rassaf T. Time to Give Up on Cardioprotection? A Critical Appraisal of Clinical Studies on Ischemic Pre-, Post-, and Remote Conditioning. *Circ. Res.* 2016;119(5):676-695.
220. Garcia-Ruiz JM, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Alvarez A, et al. Impact of the Timing of Metoprolol Administration During STEMI on Infarct Size and Ventricular Function. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016;67(18):2093-2104.
221. Pryds K, Terkelsen CJ, Sloth AD, et al. Remote ischaemic conditioning and healthcare system delay in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Heart.* 2016;102(13):1023-1028.



## VIII – AGRADECIMENTOS

O longo caminho percorrido desde a “proposta de tese” até à feitura final deste trabalho não se faz sozinho. Apesar de ser um percurso em muitos momentos individual, requer, nalgumas etapas, um enorme esforço colectivo. Por isso quero em primeiro lugar agradecer a todo o Serviço de Cardiologia, médicos, enfermeiros, técnicos e auxiliares, sem os quais não seria possível ter chegado ao fim. Ao Senhor Director do Serviço de Cardiologia do CHUP, o Dr Severo Torres, o meu muito obrigado pela amizade, pelo apoio constante à investigação e diferenciação dos seus elementos, e pela elevada qualidade assistencial do Serviço que dirige. E porque este é um trabalho clínico, o meu profundo agradecimento aos doentes que entraram de livre vontade no ensaio clínico aleatorizado. No final, tudo se resume a encontrar novos caminhos terapêuticos para a melhoria clínica dos doentes com EAMc/ST.

Quero também agradecer a todos os técnicos do Departamento de Química Clínica, sempre disponíveis, que foram essenciais para a centrifugação e armazenamento das amostras de sangue colhidas aos doentes, tantas vezes durante a noite, ao mesmo tempo que asseguravam a actividade do serviço de urgência. Em particular, agradeço ao Dr José Carlos Oliveira, Director do Serviço de Química Clínica e à técnica Ana Pacheco todo o apoio e entusiasmo entregues à componente laboratorial deste trabalho.

Ao Departamento de Ensino, Investigação e Formação (DEFI) do CHUP, (em particular à Prof<sup>a</sup> Doutora Margarida Lima), agradeço a forma expedita com que ajudou na preparação e aceitação do ensaio clínico aleatorizado, e no apoio financeiro para trabalho académico, sem o qual parte deste percurso dificilmente seria realizado.

Ao Prof Doutor Rui Magalhães do Departamento de Estudos de Populações do ICBAS-UP, pela paciência, e pela absoluta entrega ao rigor da metodologia e análise estatística. Sem a sua ajuda, todo este caminho teria sido muito mais difícil.

Ao Prof. Doutor Mário Santos, pela amizade, pela incansável ajuda na preparação dos manuscritos que compõem esta tese, pelo constante raciocínio

científico e capacidade de inovação, sem dúvida um estímulo para todos os que têm o ensejo de conciliar a actividade assistencial com a actividade académica.

Ao Dr. João Silveira, pela amizade, pela constante partilha de conhecimentos, e pelas horas de reflexão dedicadas ao tratamento dos doentes. Com efeito, toda esta tese nasce de questões levantadas durante o trabalho diário no laboratório de hemodinâmica, com o objectivo último de melhorar a condição clínica dos doentes que tratamos.

Ao Prof. Doutor Adelino Leite-Moreira, co-orientador, pela amizade, pelo rigor científico constantemente demonstrados, exemplo de como a investigação básica e clínica se devem conjugar, inovando. Foi um privilégio poder contar com os seus ensinamentos, e por isso o meu profundo agradecimento pela sua disponibilidade e estímulo em todas as fases deste trabalho.

Ao Prof. Doutor Henrique Cyrne Carvalho, orientador desta tese. Tendo o privilégio poder trabalhar desde há vários anos com o Prof. Doutor Henrique Cyrne Carvalho, enaltece-se o rigor que implementa em todas as áreas que tutela, desde o ensino pré-graduado até ao laboratório de hemodinâmica, o que permite atingir os elevadíssimos padrões de qualidade com os quais tive a oportunidade de evoluir. Central para a evolução contínua dessa qualidade, é o constante incentivo à investigação médica, na qual esta tese se inscreve. Pela amizade, por tantas horas de partilha e de trabalho conjunto, pelas constantes oportunidades que promove junto dos elementos que chefia com o objectivo de estimular a inovação, autonomia e diferenciação técnica, o meu muito obrigado.

À minha família, berço de valores e de formação cívica. Pelo primado do trabalho e da busca do conhecimento através do estudo, incutidos desde cedo, que culmina agora. Sem ela nunca teria chegado nem perto daqui.

À Daniela, por tudo.