

Talia Falcão Dalçóquio

**Reatividade plaquetária e exercício físico em pacientes com
infarto do miocárdio recente**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Nicolau

**São Paulo
2021**

Talia Falcão Dalçóquio

**Reatividade plaquetária e exercício físico em pacientes com
infarto do miocárdio recente**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutora em Ciências

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Nicolau

**São Paulo
2021**

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Dalçóquio, Talia Falcão
Reatividade plaquetária e exercício físico em
pacientes com infarto do miocárdio recente / Talia
Falcão Dalçóquio. -- São Paulo, 2021.
Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo.
Programa de Cardiologia.
Orientador: José Carlos Nicolau.

Descritores: 1.Infarto do miocárdio 2.Agregação
plaquetária 3.Inibidores da agregação plaquetária
4.Reabilitação cardíaca 5.Exercício 6.Teste
cardiopulmonar do exercício

USP/FM/DBD-404/21

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

Normatização Adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento de sua publicação:

Referências: adaptado de International Committee of Medical Journals Editors (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Divisão de Biblioteca e Documentação. Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A.L.Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com List of Journals Indexed in Index Medicus.

Sumário

	Pág.
1	INTRODUÇÃO..... 02
2	OBJETIVOS..... 18
2.1	Objetivo primário..... 19
2.2	Objetivos secundários..... 19
2.2.1	Outros objetivos..... 19
3	MÉTODOS..... 22
3.1	Plano de estudo..... 23
3.2	Desenho..... 23
3.3	Casística..... 24
3.4	Critérios de elegibilidade..... 25
3.4.1	Procedimentos..... 26
3.4.2	Coleta de sangue..... 28
3.4.3	Descrição sucinta das metodologias a aplicadas nos testes laboratoriais... 29
3.4.4	Teste cardiopulmonar de exercício..... 34
3.4.5	Avaliação da Atividade Nervosa Simpática Muscular..... 36
3.4.6	Programa de reabilitação cardiovascular baseada em exercício..... 36
3.5	Análise estatística..... 37
3.6	Financiamento..... 39
3.7	Questões éticas..... 39
4	RESULTADOS..... 40
4.1	Recrutamento e fluxo de participantes..... 41
4.2	Características basais da população estudada..... 42
4.3	Resultados: efeito do treinamento físico..... 51
4.4	Objetivo primário: comparação da reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ nos grupos controle e intervenção..... 52

4.5	Objetivo secundário.....	53
4.6	Outros objetivos secundários.....	62
4.6.1	Reatividade plaquetária, avaliada pelos métodos Multiplate ADP, Multiplate ASPI e VerifyNow P2Y ₁₂ , com o nível de atividade nervosa simpática muscular, no global da população e nos grupos treinado e não treinado.....	62
4.6.2	Objetivo primário do estudo pelo Multiplate ADP e Multiplate ASPI.....	65
4.6.3	Objetivo primário do estudo em subgrupos pré-especificados.....	66
4.7	Análises post hoc.....	70
4.7.1	Taxa de resistência à terapia antiplaquetária nos grupos controle e intervenção.....	70
4.7.2	Reatividade plaquetária e consumo máximo de oxigênio.....	71
5	DISCUSSÃO.....	76
5.1	Efeito do treinamento físico sobre a reatividade plaquetária (objetivo primário).....	77
5.2	Efeito da atividade física aguda sobre a reatividade plaquetária (objetivo secundário).....	80
5.3	Outros objetivos secundários.....	83
5.4	Limitações.....	83
6	CONCLUSÃO.....	87
7	REFERÊNCIAS.....	89

Listas

Lista de siglas

AAS	Ácido acetilsalicílico
ADP	Adenosina difosfato
ANSM	Atividade nervosa simpática muscular
ANSM100	Atividade nervosa simpática muscular corrigida pela frequência cardíaca
Bbloq	Betabloqueador
BNP	Peptídeo natriurético tipo B
BRA	Bloqueador do receptor da angiotensina II
CKMB	Creatinoquinase MB
CO ₂	Gás carbônico
CPR	Contagem de plaquetas reticuladas
CRM	Cirurgia de revascularização miocárdica
DAC	Doença arterial coronária
DAOP	Doença arterial obstrutiva periférica
DAP	Dupla antiagregação plaquetária
FAPESP	Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo
FPR	Fração de plaquetas reticuladas
GP IIb/IIIa	Glicoproteína IIb/IIIa
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
Hb1Ac	Hemoglobina glicada
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL-C	Lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol
IAM	Infarto agudo do miocárdio
IAMCSSST	IAM com supradesnível do segmento ST
IAMSSST	IAM sem supradesnível do segmento ST
IBP	Inibidor da bomba de prótons
IC	Insuficiência cardíaca
ICP	Intervenção coronária percutânea
iECA	Inibidor da enzima de conversora da angiotensina
IL-6	Interleucina-6
IMC	Índice de massa corpórea
InCor	Instituto do Coração
LDL-C	Lipoproteína de baixa densidade ligada ao colesterol
MDRD	<i>Modification of Diet in Renal Disease</i>
MET	Equivalente metabólico
O ₂	Oxigênio
PCR	Proteína C-reativa
PCR-us	Proteína C-reativa ultrasensível

PetCO ₂	Pressão parcial de gás carbônico no final da expiração
PetO ₂	Pressão parcial de oxigênio no final da expiração
PFA-100	<i>Platelet function analyzer 100</i>
QR	Quoeficiente respiratório
RNA	Ácido ribonucleico
SCA	Síndrome coronariana aguda
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TCP	Teste cardiopulmonar
TE	Teste ergométrico
TFG	Taxa de filtração glomerular
TNF- α	Fator de necrose tumoral α
V1	Visita 1
V2	Visita 2
VE	Ventilação pulmonar
VO ₂ máximo	Consumo máximo de oxigênio no pico do exercício
VPM	Volume plaquetário médio

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1 Desenho e procedimentos do estudo.....	29
Figura 2 Fluxograma do processo de recrutamento, alocação, seguimento e análise de dados [CONSORT(1)].....	41
Figura 3 Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e no final do seguimento (visita 2)	53
Figura 4 Comparação da variação da reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP (A) e Multiplate ASPI (B) e da contagem de plaquetas reticuladas (C) imediatamente após o teste cardiopulmonar em relação ao repouso ao final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção.....	57
Figura 5 Atividade nervosa simpática muscular nos grupos controle e intervenção	63
Figura 6 Correlação entre atividade nervosa simpática muscular e reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ (A), Multiplate ADP (B) e Multiplate ASPI (C) no total da população (n=17).....	64
Figura 7 Análise de subgrupos: média (IC 95%) da diferença do VerifyNow P2Y ₁₂ (PRU) no final do seguimento (visita 2) entre os grupos controle e intervenção em cada um dos subgrupos	69
Figura 8 Correlação entre reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ e consumo máximo de oxigênio no teste cardiopulmonar A) no início do seguimento (n=72) e B) no final do seguimento (n=58).....	72
Figura 9 Consumo máximo de oxigênio no teste cardiopulmonar no início de seguimento (A) e no final do seguimento (B) em pacientes resistentes e não resistentes à ação do antagonista P2Y ₁₂ (VerifyNow P2Y ₁₂ ≥ ou < 208PRUs).....	74

Lista de tabelas

Tabela 1a	Características basais da população total.....	43
Tabela 1b	Características basais da população incluída na análise do objetivo principal.....	44
Tabela 2a	Medicações basais utilizadas pela população global.....	47
Tabela 2b	Medicações basais utilizadas pela população incluída na análise do “por protocolo”	48
Tabela 3a	Características do evento-índice da população total.....	49
Tabela 3b	Características do evento-índice da população incluída na análise do objetivo principal.....	50
Tabela 4	Reatividade plaquetária no repouso e após teste cardiopulmonar no início do seguimento (visita 1).....	55
Tabela 5	Reatividade plaquetária no repouso e após teste cardiopulmonar máximo no final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção.....	56
Tabela 6	Reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2).....	58
Tabela 7	Reatividade plaquetária pelo Multiplate ASPI nos grupos controle e intervenção no início e final do seguimento.....	59
Tabela 8	Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ no grupo controle e no grupo intervenção com aderência superior a 50% ao programa de treinamento no início e no final do seguimento.....	59
Tabela 9	Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ no grupo controle e no grupo intervenção com aderência superior a 75% ao programa de treinamento no início e no final do seguimento.....	60
Tabela 10	Índices de plaquetas reticuladas e volume plaquetário médio nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2).....	61
Tabela 11	Variação nos índices de plaquetas reticuladas e no volume plaquetário médio nos grupos controle e intervenção durante o seguimento.....	61

Tabela 12	Variação de contagem de plaquetas, perfil lipídico e glicêmico, marcador inflamatório e de sobrecarga ventricular durante o seguimento nos grupos controle e intervenção.....	66
Tabela 13	Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y ₁₂ no final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção nos diferentes subgrupos	68
Tabela 14	Taxa de resistência a terapia antiplaquetária nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2).....	71
Tabela 15	Variáveis que se correlacionaram de forma independente à resistência à terapia com antagonista P2Y ₁₂ no final do seguimento (visita 2).....	75

Resumo

Dalçóquio TF. *Reatividade plaquetária e exercício físico em pacientes com infarto do miocárdio recente* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2021.

Introdução: É bem estabelecido o benefício da prática regular de exercício na redução da mortalidade cardiovascular e global. Por outro lado, agudamente, o exercício físico é descrito como um fator desencadeador de infarto agudo do miocárdio (IAM). Esses efeitos podem ser explicados, pelo menos parcialmente, pela ação observada do exercício sobre a função plaquetária: enquanto o treinamento físico sustentado se associa à redução da reatividade plaquetária entre indivíduos saudáveis ou com fatores de risco cardiovasculares, a atividade física intensa acarreta aumento da reatividade da plaqueta. Do que seja do nosso conhecimento, no entanto, os efeitos do exercício físico sobre a reatividade plaquetária em pacientes com IAM recente, em uso de dupla terapia antiplaquetária (DAP), não são conhecidos. **Objetivos:** Avaliar a reatividade plaquetária em pacientes com IAM recente em uso de DAP após treinamento físico pelo VerifyNow P2Y₁₂ (objetivo principal) e após exercício físico intenso pelo Multiplate ADP e ASPI (objetivos secundários). **Métodos:** Estudo prospectivo, randomizado e aberto. Noventa pacientes previamente sedentários 1 mês pós-IAM não-complicado foram randomizados para um grupo submetido a treinamento físico supervisionado com exercícios de intensidade moderada (grupo intervenção) ou um grupo controle que recebeu orientações sobre estilo de vida saudável, mas não foi treinado (grupo controle). Todos os pacientes utilizaram DAP. A reatividade plaquetária avaliada pelo VerifyNow P2Y₁₂ (medida em P2Y₁₂ *reactions units* – PRU), Multiplate ADP e ASPI (medida em área sob a

curva - AUC) foi determinada no início e no final do seguimento, após 14 \pm 2 semanas, imediatamente antes e após a realização de teste cardiopulmonar (TCP) máximo em cicloergômetro. **Resultados:** Sessenta e cinco pacientes (idade média 58,9 \pm 10 anos, 73,8% do sexo masculino, 60% IAM com supradesnível do segmento ST) concluíram o seguimento (31 pacientes no grupo controle e 34 pacientes no grupo intervenção). Não houve diferença na reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ entre os grupos no final do seguimento: grupo controle 172,8(\pm 68,9)PRU e grupo intervenção 166,9(\pm 65,1)PRU, p=0,72. Houve aumento da reatividade plaquetária pós-TCP em relação ao repouso tanto no início do seguimento pelo Multiplate ADP e ASPI quanto no final do seguimento no grupo intervenção Multiplate ADP e ASPI (p<0,01, para todas as análises). **Conclusão:** O treinamento físico supervisionado por 14 semanas não reduziu a reatividade plaquetária após episódio de IAM em pacientes utilizando DAP. Além disso, houve aumento de reatividade plaquetária frente ao exercício agudo e intenso, mesmo após os pacientes concluírem o programa de reabilitação e a despeito da DAP.

Descritores: Infarto do miocárdio; Agregação plaquetária; Inibidores da agregação plaquetária; Reabilitação cardíaca; Exercício; Teste cardiopulmonar do exercício.

Abstract

Dalçóquio TF. *Platelet reactivity and exercise in patients with recent myocardial infarction* [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2021.

Background: Exercise training is associated to lower cardiovascular and global death. On the other hand, strenuous exercise may trigger myocardial infarction (MI). In this context, one of pathophysiological mechanisms involved may be the effect of physical activity in platelet function: while exercise training is linked to a reduction in platelet reactivity among healthy volunteers or patients with cardiovascular risk factors, a bout of high intensity exercise leads to higher platelet reactivity. To the best of our knowledge, however, there is no data regarding the effect of exercise training or strenuous exercises in platelet function among post-MI patients on dual antiplatelet therapy (DAPT). **Purpose:** To analyze platelet reactivity by VerifyNow P2Y₁₂ after supervised exercise training (primary endpoint) and after high intensity exercise by Multiplate ADP and ASPI (secondary endpoints) in recent post-myocardial infarction population on DAPT. **Methods:** Prospective, randomized and open label, clinical trial. Ninety previously sedentary patients 1 month after uncomplicated MI were randomized to an intervention group that engaged in a supervised moderate intensity exercise training program (intervention group) or to a control group that received information about healthy lifestyle, but were not trained (control group). All patients were on DAPT. Platelet reactivity by VerifyNow-P2Y₁₂ (measured by P2Y₁₂ reactions units – PRU), Multiplate-ADP and -Aspi tests (measured in area under the curve - AUC) were determined at baseline and at the end of the 14 ±2 weeks follow-up at rest and immediately after maximal cardiopulmonary exercise test (CPET) on cycle ergometer. **Results:** Sixty-five patients (mean age 58.8 ±10

y.o.; 73.8% men; 60% ST elevation MI) completed follow-up (31 patients in control and 35 patients in intervention group). There were no significant differences on platelet reactivity by VerifyNow P2Y₁₂ between control and intervention groups at the end of follow-up: 172.8 (±68.9) and 166.9 (±65.1), respectively, (p=0.72). Platelet reactivity was significantly increased after CPET compared to rest at the beginning (among overall population) and at the end of 14-weeks follow-up (among intervention group) by Multiplate ADP and ASPI (p<0.01, for all analysis). **Conclusion:** In post-MI patients on DAPT, fourteen weeks of exercise-based cardiac rehabilitation did not improved platelet reactivity. Moreover, platelet reactivity were increased after short-term high intensity exercise, even after exercise training period and despite DAPT.

Descriptors: Myocardial infarction; Platelet aggregation; Platelet aggregation inhibitors; Cardiac rehabilitation; Exercise; Cardiopulmonary exercise test.

1 Introdução

1. Introdução

A) Exercício físico e eventos cardiovasculares

É bem estabelecido o benefício da prática regular de exercício na redução da mortalidade cardiovascular e global.(2) Em indivíduos saudáveis, para cada ganho de um equivalente metabólico (MET) no consumo máximo de oxigênio no pico do exercício (VO_2 máximo) há a redução relativa de 15% no risco de eventos cardiovasculares (óbito por doença arterial coronária ou necessidade de revascularização).(3, 4)

Em pacientes com doença arterial coronária (DAC) os benefícios da atividade física são ainda mais evidentes, de modo que quanto maior o risco cardiovascular dos pacientes com DAC estável, maior o benefício observado em manter ou iniciar atividade física.(5) Quando submetidos à reabilitação cardiovascular baseada em treinamento físico, observa-se redução relativa de 26% (RR=0,74, IC 95% 0,64 a 0,86) e absoluta de 2,8% (NNT=36) na mortalidade cardiovascular, conforme dados de metanálise recente que incluiu mais de 14 mil pacientes em 63 estudos randomizados com seguimento médio de 12 meses.(6)

Por outro lado, agudamente o exercício físico é descrito como um fator desencadeador de infarto agudo do miocárdio (IAM).(7) Esse entendimento é tão antigo quanto a primeira descrição de IAM não fatal em 1910 por Obratsov e Strazhesko(8). Os autores relataram cinco casos de IAM, dos quais em um deles

admitiram que o esforço físico da subida de uma escada teria sido o fator desencadeador para trombose coronária e consequente IAM.(8, 9)

Atualmente, sabe-se que quase metade dos pacientes com IAM referem alguma situação desencadeadora antes do evento. Depois de estresse emocional, a atividade física moderada (14,1%) ou intensa (8,7%) foi o fator desencadeante mais citado pelos pacientes (n=849) incluídos no estudo MILIS (*The Multicenter Investigation of the Limitation of Infarct Size*).(10) Em uma casuística mais recente, na qual se incluiu dados de pacientes (n=12.461) internados consecutivamente pelo primeiro episódio de IAM em 262 centros de 52 países, verificou-se que em 13,6% dos casos havia o relato de atividade física na hora imediatamente anterior ao início dos sintomas isquêmicos.(11)

No estudo Onset (*Determinants of myocardial infarction Onset study*), os pacientes (n=1.228) foram entrevistados após episódio de IAM e questionados quanto à atividade física no período de uma a duas horas imediatamente anteriores ao IAM. Esse período foi comparado a dois períodos controles: 1) último ano (para se determinar o nível de atividade física usual); 2) intervalo entre 24h e 26h anteriores ao infarto. Verificou-se aumento significativo do risco relativo de IAM na primeira hora após a realização de atividade física intensa em comparação a ambos os períodos controles: risco relativo de 5,9 (IC 95% 4,6 – 7,7) e de 5,9 (IC 95% 2,7 – 12,8) para quando comparado ao período controle no ano e no dia anterior ao evento, respectivamente(12) Além do Onset, outros estudos reforçaram o entendimento de que o exercício físico, principalmente quando de elevada intensidade, seria um importante desencadeante de trombose coronariana e IAM. (11, 13, 14)

As características clínicas e angiográficas associadas a infartos desencadeados pelo exercício parecem diferir dos infartos sem fatores desencadeantes identificados. Em uma coorte de 640 pacientes com IAM com supradesnível do segmento ST tratados por angioplastia primária, 10% dos pacientes referiram o exercício físico como “gatilho” do IAM; nessa população houve maior percentual de homens ($p=0,002$), obesos ($p=0,002$), tabagistas ($p=0,001$), sedentários ($p=0,02$), classificação de Killip ≥ 2 ($p=0,001$), arritmia ventricular na apresentação pelo evento-índice ($p=0,02$), além de menor taxa de utilização de aspirina ($p=0,02$) e betabloqueadores ($p=0,001$) antes da admissão quando comparados aos pacientes que sofreram IAM não desencadeados por exercício. Em relação às características angiográficas, nos pacientes com IAM associados a exercício foram observadas maiores cargas trombóticas ($p=0,001$), enquanto nos demais pacientes notou-se maior número de leitos coronarianos acometidos à angiografia ($p=0,001$). Associaram-se de forma significativa e independente com “IAM desencadeado por exercício”: sexo masculino, dislipidemia, tabagismo, obesidade, sedentarismo e angina estável.(15)

Outra diferença interessante foi destacada no estudo de Tanaka e col., no qual se comparou as características das placas rotas por tomografia de coerência óptica em IAMs desencadeados ou não por atividade física: nos pacientes que experimentaram IAM após exercício a capa fibrosa da placa de ateroma era mais espessa e a ruptura ocorreu mais frequentemente na extremidade da placa.(16) Este achado sugere que, nos IAM relacionados a esforço físico, fatores como maior estresse de cisalhamento e estado pró-trombótico exacerbado associados ao exercício, seriam mais relevantes para instabilização da placa e desencadeamento da síndrome coronariana aguda

(SCA) do que as características de vulnerabilidade da placa (como maior conteúdo lipídico e menor espessura da capa fibrosa) observadas em outros cenários.

Adicionalmente, é bem estabelecido que o sedentarismo (ou a reduzida frequência de exercício físico usual) é um importante fator de risco para IAM induzido por exercício intenso.(12-15) No estudo de Giri e col., oitenta e quatro por cento desses eventos ocorreram em pacientes que referiram muito baixa ou baixa frequência de atividade física no ano anterior ao IAM, sendo que o risco relativo de infarto associado ao exercício intenso no subgrupo de indivíduos com muito baixa atividade física foi de 30,5 (IC 95% 4,4 a 209,9). Já entre os indivíduos não sedentários, classificados como ao menos moderadamente ativos pelos critérios adotados no estudo, não se observou aumento significativo do risco de IAM após exercícios intensos.(15)

B) Efeitos fisiológicos do exercício e doença coronária

O exercício físico desencadeia agudamente uma série de adaptações fisiológicas e, dentre elas, talvez a mais relevante seja o aumento do tônus simpático com liberação de catecolaminas na circulação e consequente elevação da frequência cardíaca, pressão arterial e débito cardíaco. Quanto mais intenso o exercício, maiores são os níveis de adrenalina e noradrenalina plasmáticos observados, podendo-se alcançar no pico do exercício valores acima de 20 vezes os basais.(17)

A elevação do tônus simpático pode implicar aumento do risco de IAM tanto pelo aumento de consumo de oxigênio miocárdico, levando à isquemia por

desproporção entre oferta e demanda de oxigênio miocárdico, quanto por lesão endotelial e instabilização de placa aterosclerótica induzida pelo estresse de cisalhamento a que a parede do vaso é submetida durante o esforço.(18)

Além disso, importantes alterações fisiológicas são descritas no sentido de se criar um microambiente intravascular trombogênico após exercício intenso, podendo-se destacar: 1) Aumento da ativação plaquetária: há aumento da expressão de receptores alfa₂-adrenérgicos na superfície das plaquetas tornando-as mais reativas às catecolaminas circulantes e com maior afinidade pelo fibrinogênio(19) e se observa maior ativação de receptores da glicoproteína IIb/IIIa (Gp IIb/IIIa) na superfície da plaqueta; 2) Estímulo a cascata da coagulação: ocorre aumento da geração de trombina, fator VIII e fator de von Willebrand; 3) Aumento da atividade inflamatória: há elevação de citocinas inflamatórias como fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa) e interleucina-6 (IL-6) (17, 20) estimulando, por exemplo, a produção do fator tecidual pelo monócito levando à coagulação e trombogênese.(20)

Em contrapartida, o treinamento físico sustentado se associa à modulação do sistema nervoso autônomo,(21, 22) melhora da disfunção endotelial (maior disponibilidade de óxido nítrico e de prostaciclina), redução de marcadores inflamatórios, como IL-6 e proteína C-reativa (PCR), aumento de citocinas anti-inflamatórias, aumento da fibrinólise e, por fim, inibição da atividade plaquetária.(20, 23)

C) Efeito agudo do exercício físico sobre a fisiologia plaquetária

O exercício físico de forma aguda atua em diversos aspectos da função plaquetária, sumarizados a seguir:

- a) Contagem de plaquetas circulantes: o incremento do tônus adrenérgico ocasiona contração do baço, onde cerca de 30% das plaquetas do organismo estão estocadas e, conseqüentemente, leva a um importante aumento na quantidade de plaquetas circulantes.(24, 25) Além disso, o exercício se associa à redução do volume plasmático, o que também contribui para esse aumento observado na contagem plaquetária.(26) Essa elevação do número de plaquetas na circulação induzida pelo exercício foi observada mesmo em indivíduos previamente treinados(27, 28) e é proporcional à intensidade do exercício realizada.(29)
- b) Volume plaquetário médio (VPM): plaquetas maiores, caracterizadas por VPM mais elevados, são metabolicamente mais ativas do que plaquetas menores: são mais densas (maior quantidade de grânulos plaquetários), possuem maior capacidade de produzir e liberar importantes mediadores para amplificação do estímulo de ativação e agregação plaquetária, como tromboxane β_2 e serotonina, e expressam na sua superfície maior quantidade de receptores, como o receptor da Gp IIb/IIIa.(30, 31) A ação do exercício físico sobre o VPM, porém, é controverso. Enquanto alguns estudos demonstraram incremento no VPM após exercício físico intenso(28, 32) (talvez justificado pelo maior volume apresentado pelas plaquetas liberadas pelo baço),(25, 33) outros não demonstram essa alteração, mesmo após exercício extenuante.(34) Ylmaz e col., compararam o VPM antes e após teste ergométrico (TE) em 63 pacientes com doença coronária obstrutiva evidenciada pela

cineangiografias e TE positivo, com 35 indivíduos (grupo controle) submetidos à cineangiografia com ausência de obstrução >50% em coronárias epicárdicas e prova funcional sem evidência de isquemia. Demonstrou-se aumento significativo do VPM induzido pelo exercício somente no grupo de pacientes: VPM basal $8,5 \pm 0,6$ fL e após o TE $9,9 \pm 0,9$ fL, $p < 0,001$. No grupo controle esse efeito não ocorreu, VPM basal de $8,4 \pm 0,5$ fL e VPM após o TE de $8,5 \pm 0,4$ fL, ($p = 0,38$), apesar de terem sido observados maior tempo de exercício e frequência cardíaca mais elevada durante o TE no grupo controle.(35) Esses achados sugerem que, além da liberação de plaquetas induzidas pela estimulação adrenérgica do baço, outros mecanismos, como estresse de cisalhamento, estenoses mais pronunciadas e maior disfunção endotelial em pacientes com doença coronária, poderiam influenciar a liberação de população de plaquetas com maior VPM.

- c) Contagem de plaquetas reticuladas: também chamadas de plaquetas jovens ou reticuladas, são assim denominadas por manterem ácido ribonucleico (RNA) e a capacidade de síntese e armazenamento proteico. São plaquetas recém-liberadas na circulação, geralmente mais volumosas e metabolicamente mais ativas, com maior poder de adesão e agregação. Há interesse crescente na avaliação dessa fração plaquetária, visto ter se demonstrado correlação com maior risco cardiovascular e pior resposta à terapia antiplaquetária.(36-38) Apesar de não haver publicações abordando o efeito do exercício físico sobre a fração e contagem de plaquetas reticuladas circulantes, demonstrou-se que, mesmo havendo elevação do VPM após exercício intenso, a

concentração de marcadores indiretos da idade plaquetária (como nível de atividade da monoaminoxidase plaquetária após uso de inibidor específico e conteúdo plaquetário de ácido siálico, serotonina e β -tromboglobulina não se alteram de forma significativa, sugerindo-se que o exercício não seja associado à liberação de plaquetas jovens na circulação, ou, em outras palavras, que mesmo que a população de plaquetas armazenadas no baço apresentem maiores volumes, não representariam uma população de plaquetas mais jovens que a população de plaquetas circulantes.(33)

- d) Reatividade plaquetária: estudos in vitro demonstram que a presença da adrenalina potencializa a ativação e agregação plaquetária mediada por adenosina difosfato (ADP) e pela via da ciclo-oxigenase.(39, 40) Marcadores de ativação plaquetária também se encontram aumentados após exercício intenso, como a β -tromboglobulina e o fator plaquetário-4, observando-se ainda maior expressão de P-selectina e maior densidade de receptores de Gp IIb/IIIa. (20, 27) Nesse contexto, estudos clínicos, tanto com indivíduos saudáveis quanto em portadores de DAC, avaliaram a influência da atividade física intensa sobre a ativação e agregação plaquetária.

C1) Efeito agudo do exercício físico sobre a reatividade plaquetária em indivíduos saudáveis

Wang e col. avaliaram o impacto do exercício físico agudo em indivíduos saudáveis (sedentários e fisicamente ativos). Os participantes foram submetidos

a um primeiro teste cardiopulmonar (TCP) máximo em cicloergômetro (exercício intenso) e a um segundo exame, em que se manteve o exercício por 30 minutos com intensidade entre 50 e 55% do consumo de oxigênio máximo obtido no primeiro exame (exercício moderado) e avaliaram a função plaquetária antes e depois de cada um dos testes. Após o exercício intenso os autores demonstraram maior reatividade plaquetária induzida pelo ADP. Em contrapartida, após o exercício moderado, houve redução significativa da reatividade plaquetária pelo ADP em relação ao repouso em ambos os grupos. (27)

Diferentemente do que foi demonstrado por Wang e col.(27), no ensaio de Cadroy e col. não se demonstrou aumento de reatividade plaquetária por método de agregometria óptica induzida por ADP e colágeno, tanto após exercício de moderada (50% do consumo máximo de oxigênio) quanto de elevada intensidade (70% do consumo máximo de oxigênio).(29) Por outro lado, demonstrou-se uma redução do tempo de formação de tampão plaquetário, principalmente após exercício físico intenso, quando se utilizou o PFA-100, metodologia com sangue total que mede o tempo necessário para formação do trombo plaquetário, após a amostra ser submetida a altas taxas de cisalhamento e a ação de agonistas (colágeno-adrenalina e colágeno-ADP).(29)

Utilizando citometria de fluxo com sangue total, método menos sujeito à ativação da plaqueta *in vitro*, Kestin e col. demonstraram aumento da reatividade e ativação plaquetária induzida pela trombina após exercício físico extenuante (TE em esteira) somente entre sedentários. Contrariamente, nos voluntários previamente ativos não se demonstrou aumento da reatividade plaquetária pelo exercício. (27, 29, 41)

Madsen e col. avaliaram se a ativação plaquetária poderia ser inibida pelo uso de ácido acetilsalicílico (AAS) ou clopidogrel em voluntários saudáveis submetidos a exercício intenso. No entanto, observaram que o tempo de formação do tampão plaquetário foi reduzido independentemente do uso desses antiplaquetários de forma isolada. (42) Não se testou, contudo, se a dupla antiagregação plaquetária (DAP) seria capaz de atenuar esse aumento da reatividade plaquetária pelo exercício.

Diante do exposto, a evidência atual sugere que quando indivíduos saudáveis são expostos ao exercício físico agudamente há aumento significativo da reatividade plaquetária, especialmente ao se utilizar metodologias com sangue total (reconhecidamente mais fisiológicas). A elevação da reatividade plaquetária induzida pelo exercício não é inibida pelo uso de antiplaquetários de forma isolada (42) e é influenciada pelo grau de condicionamento físico prévio do indivíduo e pela intensidade do exercício a que é submetido.(27, 29, 43, 44). (41)

C2) Efeito agudo do exercício físico sobre a reatividade plaquetária em pacientes com doença arterial coronária (DAC)

Quando submetidos a testes funcionais máximos, limitados por sintomas, pacientes com DAC estável em uso de aspirina apresentam maior reatividade plaquetária pelos métodos PFA-100,(45, 46) e Multiplate-ADP(47) assim como, maior expressão do receptor de Gp IIb/IIIa, importante via final comum da agregação plaquetária.(45)

Andreotti e col. documentaram aumento da reatividade plaquetária mesmo quando esses pacientes são submetidos a exercícios menos intensos. Pacientes com angina estável em uso de aspirina e pelo menos uma coronária epicárdica com obstrução $\geq 75\%$ do seu diâmetro pela angiografia e um grupo controle sem doença coronária obstrutiva, foram submetidos à TE até o estágio 3 de Bruce (exercício de moderada intensidade) e avaliados quanto à reatividade plaquetária pelo PFA-100 (colágeno/ADP como agonistas) imediatamente antes e após o teste. O aumento da reatividade plaquetária ocorreu tanto nos pacientes com teste positivo para isquemia ($n=14$, $p=0,03$), quanto naqueles com teste negativo ($n=13$, $p=0,007$). No entanto, no grupo controle ($n=12$), ou seja, sem doença coronária obstrutiva, não houve aumento da reatividade plaquetária induzida pelo exercício de intensidade moderada ($p=0,46$).⁽⁴⁸⁾

Na mesma linha, comparando-se pacientes com angina estável com doença obstrutiva pela angiografia ($n=163$) a pacientes com síndrome X, ou seja com angina e teste funcional positivo, porém sem coronariopatia obstrutiva ($n=31$), demonstrou-se maior reatividade plaquetária esforço-induzida somente nos pacientes com lesões estenóticas, sendo que uma redução maior ou igual a 10 segundos do tempo de oclusão do PFA-100 (indicando aumento da adesão e agregação plaquetária) apresentou uma especificidade de 100% e sensibilidade de 56% para presença DAC obstrutiva nessa população.⁽⁴⁹⁾

A reatividade plaquetária induzida por estresse de cisalhamento (SIPA – *shear induced platelet aggregation*), avaliada pela porcentagem de plaquetas agregadas após a amostra de plasma rico em plaquetas ser submetida a diferentes velocidades de rotação, está aumentada em pacientes com angina estável após TE em esteira em relação ao repouso, conforme demonstrado por

Tokue e col. Nessa população, demonstrou-se ainda correlação significativa entre os níveis do fator de von Willebrand no plasma e os valores de agregometria ($r= 0,74$, $p < 0,05$), sugerindo uma importante via de ativação associada a microlesões endoteliais.(50)

Esses achados sugerem que o estresse de cisalhamento acentuado nas áreas de estenose crítica e a disfunção endotelial a que os pacientes com DAC estão sujeitos, podem contribuir para o aumento da reatividade plaquetária, (40, 48-50) mesmo quando o exercício não é considerado extenuante e associado a uma grande liberação catecolaminérgica.(48, 50)

No entanto, quando se analisa a reatividade plaquetária por outros métodos que não o PFA-100 e SIPA, como agregometria óptica em plasma rico em plaquetas, os resultados são conflitantes: há estudos demonstrando aumento(51), ausência de influência,(52) (53) e até a redução da reatividade plaquetária após exercício intenso em pacientes com DAC estável.(54)

Kitai e col. avaliaram uso de AAS (n=16) ou AAS em associação a ticlopidina (n=16) na inibição da reatividade plaquetária ao exercício em pacientes DAC estável. Entre os pacientes que utilizaram AAS em associação a ticlopidina não houve aumento da reatividade após exercício intenso por agregometria óptica pelas vias do ADP e do colágeno e pelos valores da SIPA. O uso de AAS isoladamente, no entanto, inibiu somente o aumento da reatividade plaquetária induzida pelo colágeno após exercício.(55)

Por outro lado, Brunner e col. demonstraram que o uso de AAS em associação a clopidogrel ou prasugrel em pacientes com DAC estável não inibiu o aumento da reatividade plaquetária após a realização de teste ergométrico em cicloergômetro.(47) Além disso, o uso de anticoagulante oral, assim como de

terapia antiplaquetária de forma isolada, também não foi eficaz em inibir o aumento da reatividade plaquetária após exercício no estudo de Hurlen e col. Os pacientes foram tratados com aspirina (n=20) ou varfarina (n=20) e submetidos a teste de esforço em cicloergômetro com uma mediana de 7 meses após o IAM demonstrando-se aumento na formação de agregados plaquetários após exercício, tanto nos pacientes tratados com aspirina, quanto nos que receberam varfarina.(56)

Com isso, além da intensidade e do grau de condicionamento físico, a presença de doença aterosclerótica obstrutiva também pode impactar na elevação da reatividade plaquetária ao exercício agudo. Até o momento, no entanto, não há dados na literatura sobre esse efeito em pacientes com IAM recente em uso de DAP.

D) Efeito crônico do exercício físico sobre a reatividade plaquetária

Do ponto de vista mecanístico é descrito efeito “antiplaquetário” do exercício físico crônico ou treinamento físico em diversos aspectos da fisiologia das plaquetas: a) ativação plaquetária: há redução de marcadores de ativação da plaqueta como fator de von Willebrand,(57) tromboxane,(58) e P-selectina;(57) b) receptores de superfície: há menor densidade de receptores adrenérgicos α_2 (59) e de Gp IIb/IIIa;(60) e c) modulação da sinalização citoplasmática: há aumento dos níveis de GMPc plaquetário, associado a uma menor ativação da plaqueta pelo estresse de cisalhamento.(61, 62)

Também já se demonstrou efeito benéfico do treinamento físico sobre a reatividade plaquetária tanto na sua redução basal em repouso, (43, 57, 58, 61),

(62) quanto na atenuação do aumento da reatividade plaquetária em resposta a exercício físico intenso.(43, 57, 58, 61, 63)

Wang e col. avaliaram a reatividade plaquetária em homens sedentários previamente saudáveis (n=23)(43) e em mulheres em idade fértil (n=16)(61) randomizados para grupo de treinamento físico de moderada intensidade em cicloergômetro (sessões de 30 minutos ao dia, cinco vezes na semana, durante 8 semanas) ou grupo controle. Demonstrou-se, em ambos ensaios clínicos, no grupo de treinamento físico ao final das 8 semanas, redução da reatividade plaquetária induzida por ADP em repouso e redução da adesão plaquetária ao fibrinogênio. Essa ação benéfica sobre a reatividade plaquetária, no entanto, foi perdida ao se repetirem os testes após período de descondicionamento físico, reiterando-se a importância do treinamento contínuo na manutenção dos efeitos benéficos observados sobre a função plaquetária.(43, 61)

Especificamente em indivíduos hipertensos, submetidos à treinamento por 12 semanas com exercícios de baixa e moderada intensidade, observou-se redução da reatividade plaquetária induzida por ADP(58) e por colágeno.(62)

Já em portadores de doença arterial obstrutiva periférica (DAOP), no entanto, não se conseguiu demonstrar redução da reatividade plaquetária após treinamento supervisionado.(64) Entretanto, essas conclusões precisam ser vistas com cautela já que, diferentemente dos demais estudos, os pacientes com DAOP foram submetidos a somente 2 semanas de treinamento e com menor capacidade de se atingir intensidade adequada de treinamento pela própria limitação da vasculopatia.

A demonstração de que o treinamento físico reduz a reatividade plaquetária basal ao repouso e modula a resposta plaquetária induzida por

exercício intenso(41, 43, 57, 58, 61, 63) está em concordância e pode explicar, pelo menos em parte, o fato de que indivíduos que praticam atividade física regularmente são menos sujeitos a complicações cardiovasculares,(3, 4) mesmo após se exporem a exercícios intensos.(12-15)

Contudo, apesar desse mecanismo protetor sobre a reatividade plaquetária estar bem estabelecido entre indivíduos saudáveis,(43, 57, 61) ou com fatores de risco cardiovasculares,(58, 62) do que seja do nosso conhecimento o efeito do treinamento físico em pacientes em profilaxia secundária, pós-IAM recente e em uso de DAP, não foi previamente avaliado na literatura.

E) Reatividade plaquetária e eventos clínicos

A associação entre maior reatividade plaquetária e eventos isquêmicos, especialmente IAM e trombose de stent, é bem descrita na literatura.(65-67)

No estudo Popular (*Do platelet function assays predict clinical outcomes in clopidogrel-pretreated patients undergoing elective PCI*) 1.069 pacientes em uso de clopidogrel realizaram avaliação da reatividade plaquetária por cinco diferentes métodos (agregometria óptica com plasma rico em plaquetas, VerifyNow P2Y₁₂, Plateletworks, IMPACT-R e PFA-100) imediatamente antes da realização de angioplastia eletiva. A presença de elevada reatividade plaquetária residual avaliada pelos métodos de agregometria óptica, VerifyNowP2Y₁₂ e Plateletworks associou-se ao desfecho primário do estudo (composto de morte, IAM, trombose de stent e acidente vascular encefálico). Além disso, verificou-se que a capacidade preditiva para o desfecho primário foi modesta, porém

semelhante entre os três métodos citados (área sob a curva: 0,62 para agregometria óptica em plasma rico em plaquetas e VerifyNow P2Y₁₂ e 0,61 para o Plateletworks). (66) Entre os métodos descritos no estudo Popular que se associaram a desfechos clínicos, o VerifyNow mostra-se como o mais facilmente aplicável à prática clínica, uma vez que a agregometria óptica exige manipulação mais complexa da amostra e maior tempo para execução e o Plateletworks necessita análise da amostra em até 10 minutos após a coleta. No VerifyNow, por outro lado, utiliza-se sangue total, com menor manipulação da amostra e menor ativação plaquetária in vitro, além de haver estabilidade para realização do teste em até 4 horas após a coleta de sangue.(68)

Posteriormente, em uma análise colaborativa que incluiu 20.839 pacientes de 17 estudos que utilizaram VerifyNow P2Y₁₂, Multiplate-ADP ou VASP como métodos de aferição da reatividade plaquetária se reforçou a associação entre elevada reatividade plaquetária residual em uso de clopidogrel e eventos isquêmicos (trombose de stent e mortalidade).(67)

Atualmente, recomenda-se a avaliação da reatividade plaquetária preferencialmente com metodologias “*point of care*” padronizadas e validadas clinicamente como VerifyNow, Multiplate, VASP ou tromboelastografia, conforme publicado em recente consenso de especialistas.(69) Diante do exposto, o estudo da reatividade plaquetária frente ao exercício físico agudamente e ao treinamento físico regular em pacientes infartados no contexto atual, com uso de testes de função plaquetária *point of care* validados clinicamente e em pacientes utilizando DAP, poderá fornecer informações importantes acerca dos seus potenciais benefícios na prevenção da recorrência de eventos isquêmicos nessa população de risco muito elevado.

2 Objetivos

2.1 Objetivo primário

Avaliar o efeito do treinamento físico regular por 14 semanas na reatividade plaquetária, pelo método VerifyNow P2Y₁₂, em pacientes com IAM recente em uso de DAP.

2.2 Objetivos secundários

- a. Comparar a reatividade plaquetária imediatamente antes e após o TCP no início do seguimento na população total;
- b. Comparar a reatividade plaquetária imediatamente antes e após o TCP ao final do seguimento nos grupos controle e intervenção;
- c. Avaliar o objetivo primário do estudo pelo Multiplate ADP e Multiplate ASPI;
- d. Avaliar o objetivo primário do estudo considerando somente pacientes do grupo intervenção que tenham obtido mais que 50% e mais que 75% da frequência no programa de treinamento supervisionado;
- e. Comparar o VPM e índices de plaquetas reticuladas nos grupos intervenção e controle;

2.3 Outros objetivos

- a. Correlacionar a reatividade plaquetária, avaliada pelos métodos VerifyNow P2Y₁₂, Multiplate ADP e Multiplate ASPI com o nível de

atividade simpática nervosa muscular (ANSM), na população total e nos grupos intervenção e controle;

b. Analisar, nos grupos intervenção e controle, os seguintes parâmetros:

- Contagem plaquetária;
- Colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C);
- Colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDL-C);
- Triglicérides;
- Glicemia de jejum;
- Hemoglobina glicada (HbA1c);
- PCR-ultrassensível (PCR-us);
- Peptídeo natriurético tipo B (BNP);
- Transferência de lípidos para o HDL.

c. Analisar o objetivo primário do estudo nos seguintes subgrupos (avaliação basal, levando-se em conta parâmetros obtidos na randomização):

- Sexo (masculino ou feminino);
- Evento-índice (IAM com ou sem supradesnível do segmento ST);
- História de hipertensão arterial (presença ou não);
- Níveis de LDL-C (<100 ou \geq 100 mg/dl);
- Idade (\geq 65 anos ou < 65 anos);
- Índice de massa corpórea (IMC) <30 ou \geq 30kg/m²;

- Taxa de filtração glomerular (TFG) pela fórmula do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD)(70) ($<60\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ ou $\geq 60\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$);
- Tabagismo atual (sim ou não);
- História de diabetes (presença ou não);
- HbA1c ($<6,5\%$ ou $\geq 6,5\%$);
- Escore de risco GRACE(71) (≥ 140 ou <140);
- Betabloqueador (uso ou não).

3 Métodos

3.1 Plano do estudo

3.2 Desenho

Ensaio clínico prospectivo, randomizado e aberto (protocolo registrado no site clinicaltrials.gov sob o número: NCT 02958657). Pacientes com IAM não complicado internados na Unidade de Coronariopatia Aguda do Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) foram randomizados para realização de programa de treinamento físico presencial supervisionado por 14 ±2 semanas na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor-HCFMUSP (grupo intervenção) ou para um grupo controle não treinado. A randomização foi realizada na taxa 1:1 (1 controle:1 intervenção) do 1º ao 40º paciente e na taxa 1:2 (1 controle:2 intervenção) do 41º ao 90º paciente, a fim de se ajustar as interrupções precoces de seguimento por desistências mais frequentes no grupo intervenção.

Todos os pacientes foram incluídos após os devidos esclarecimentos e a assinatura do termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE). Os pacientes foram submetidos à coleta de material para avaliação laboratorial, incluindo reatividade plaquetária, associados à avaliação cardiorrespiratória na primeira visita (30 ±5 dias após o IAM) e na visita final do acompanhamento (14 ±2 semanas após a primeira visita). A avaliação da ANSM foi realizada no final do acompanhamento em uma amostra da população correspondente aos 30 últimos pacientes consecutivamente incluídos no estudo.

3.3 Casuística

Para a realização do cálculo amostral, utilizou-se dados de literatura que demonstram reatividade plaquetária média por VerifyNow P2Y₁₂ em pacientes pós-IAM em uso de aspirina e ticagrelor de $32,9 \pm 16$ PRU.(72) Considerando-se que alterações acima de 30% nos valores de reatividade plaquetária se associam a desfechos clínicos,(73, 74) e levando-se em conta a hipótese de que haveria redução de 35% na reatividade plaquetária no grupo intervenção, com poder de 80% e alfa bicaudal de 0,05, a amostra estimada foi de 62 pacientes (31 pacientes em cada grupo). Admitindo-se um percentual de perdas de 40%, face às dificuldades inerentes à aderência ao programa de treinamento, o planejamento inicial contemplou a inclusão de 90 pacientes no estudo. Devido a observação de interrupção precoce do seguimento acima de 40% no grupo intervenção, a taxa de randomização foi alterada para 1:2 a partir do 41º paciente incluído no estudo, de modo que foram randomizados 37 pacientes para o grupo controle e 53 pacientes para o grupo intervenção.

Apesar do cálculo amostral ter sido realizado considerando-se a reatividade plaquetária em uso de ticagrelor, na nossa casuística o inibidor do receptor P2Y₁₂ utilizado na maioria dos casos foi o clopidogrel. Embora as diretrizes mais atuais(75, 76) recomendem preferencialmente o uso de antiplaquetários mais potentes (ticagrelor ou prasugrel) na maioria dos casos após a SCA, apenas o clopidogrel era dispensado pelo sistema público de saúde aos pacientes durante a fase de execução do estudo, de modo que foi o antiplaquetário utilizado pela maioria dos pacientes.

Diante desta observação, um novo cálculo amostral foi realizado durante o período de triagem e seleção de pacientes. Considerando-se o valor de VerifyNow P2Y₁₂ igual a 181 ±64 PRU(73) correspondente à reatividade plaquetária de pacientes pós-IAM em uso de aspirina e clopidogrel, a amostra incluída permitiria detectar diferença de reatividade plaquetária de 35% entre os grupos com poder de 90% e um alfa bicaudal de 0,01, ou seja, com uma menor probabilidade de erro tipo I e II. Optou-se, desta forma, por se manter o cálculo amostral originalmente apresentado.

3.4 Critérios de elegibilidade

a) Critério de inclusão

- Idade > 18 anos;
- Diagnóstico comprovado de IAM espontâneo (tipo 1) com ou sem supradesnível do segmento ST (definido de acordo com a terceira definição universal de IAM, vigente durante o período de inclusão no protocolo) (77) nos 30 dias prévios à inclusão no estudo;
- Concordância em assinar o TCLE.

b) Critérios de exclusão

- Qualquer condição que contraindique a realização de atividade física;
- Praticantes de atividade física regular previamente ao evento isquêmico;
- Programação de cirurgia de revascularização miocárdica;
- Hospitalização por eventos cardiovasculares nos últimos 12 meses;

- Disfunção ventricular (fração de ejeção inferior a 45% ao ecocardiograma avaliada pelo método de Simpson durante hospitalização pelo evento índice);
- Classificação de Killip III e IV;
- Arritmia de alto risco e/ou bloqueio atrioventricular de 2º e 3º graus;
- Diabetes mellitus com indicação de uso de insulino-terapia endovenosa durante a hospitalização;
- Doença renal crônica caracterizada por *TFG* menor que 30ml/min/1,73m² (estimado pela fórmula MDRD);(70)
- Anticoagulação oral;
- Uso crônico de anti-inflamatórios não-esteroidais e/ou dipiridamol;
- Disfunção plaquetária conhecida ou contagem plaquetária <100.000/ μ L ou >450.000/ μ L;
- Doença terminal;
- Hepatopatia ou distúrbio da coagulação conhecidos;
- Hematócrito menor que 33% ou maior que 52%;
- Participação em outro estudo clínico.

3.4.1 Procedimentos

Os dados obtidos dos procedimentos nos 3 momentos previstos pelo protocolo, conforme descritos a seguir, foram compilados em formulários específicos.

a) Visita de inclusão e randomização (\leq 1 mês após o IAM):

- Avaliação dos critérios de elegibilidade;

- Esclarecimentos e aplicação do TCLE;
- Randomização;
- Coleta de dados demográficos, antecedentes médicos incluindo histórico de doença e de fatores de risco cardiovasculares, dados sobre o evento-índice (classificação da SCA com ou sem supra, escore de risco GRACE, dados laboratoriais e de exames complementares realizados na hospitalização) e medicações concomitantes.

b) Visita 1 (30 ±5 dias após IAM)

- Anamnese para avaliação de eventos adversos e atualização de medicações concomitantes;
- Coleta dos exames laboratoriais (hemograma com contagem de plaquetas reticuladas e determinação de VPM, glicemia de jejum, Hb1Ac, perfil lipídico, transferência de lípidos para HDL-colesterol, PCR-us, BNP, VerifyNow P2Y₁₂, Multiplate ADP e Multiplate ASPI) em repouso e após jejum de 8 a 12h;
- Desjejum;
- Coleta de dados antropométricos;
- Realização de TCP máximo em cicloergômetro;
- Coleta de exames laboratoriais imediatamente após o TCP: hemograma com contagem de plaquetas reticuladas e determinação de VPM, Multiplate ADP e Multiplate ASPI;
- Orientação de estilo de vida incluindo orientação a dieta, atividade física e cessação do tabagismo para todos os participantes;

- Agendamento das sessões do programa de reabilitação supervisionado somente para os pacientes do grupo intervenção.

c) Visita 2 (14 ±2 semanas após a visita 1)

- Realização dos procedimentos descritos na Visita 1 (exceto agendamentos);
- Questionamento sobre prática de exercício físico domiciliar durante o seguimento (intensidade e frequência semanal);
- Avaliação da ANSM por microneurografia após, pelo menos, 24h do último TCP, realizada somente nos 30 últimos pacientes incluídos no estudo.

3.4.2 Coleta de sangue

As coletas sanguíneas foram realizadas duas vezes em cada visita do estudo: a primeira amostra era obtida com paciente em jejum e em repouso e a segunda após o desjejum e imediatamente após a realização de TCP, O sangue era coletado após punção venosa a vácuo em veia periférica, com tempo de garroteamento inferior a 1 minuto. As análises de reatividade plaquetária foram realizadas entre 30 minutos e 3:30 horas após a coleta da amostra.



IAM: infarto agudo do miocárdio; TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; ANSM: atividade nervosa simpática muscular; *hemograma com contagem de plaquetas reticuladas, perfil lipídico, transferência de lípidos para HDL, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, peptídeo natriurético tipo B, proteína C-reativa ultrasensível.

Figura 1 - Desenho e procedimentos do estudo

3.4.3 Descrição sucinta das metodologias a aplicadas nos testes laboratoriais

- a) VerifyNow P2Y₁₂ (Accumetrics, San Diego, EUA): teste *point-of-care* com sangue total que avalia a reatividade plaquetária por agregometria óptica. O sangue total, coletado em tubos de citrato, é transferido para um cartucho próprio descartável contendo grânulos revestidos por fibrinogênio e ADP. O sangue é misturado e entra em contato com o agonista (ADP) e os grânulos de fibrinogênio com auxílio da movimentação de pequenas esferas de aço eletromagnéticas. À medida que a ativação e agregação plaquetária ocorrem, as plaquetas ativadas ligam-se aos grânulos de fibrinogênio e precipitam. Com isso, há a passagem de maior quantidade de luz através da coluna de sangue contida no cartucho. O sistema converte

a luminosidade transmitida em Unidades de Reação ao P2Y₁₂ (*P2Y₁₂ Reaction Unit* – PRU). Quanto maior a reatividade plaquetária maior o resultado em PRU. O teste VerifyNow P2Y₁₂ foi realizado uma vez em cada visita do estudo, em repouso, antes da realização do TCP.

- b)** Multiplate (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Suíça): teste de agregometria por impedância elétrica que analisa a reatividade plaquetária em sangue total a 37°C por meio da ligação das plaquetas a eletrodos metálicos, levando a mudanças na condutância elétrica (ou impedância), após a ativação e agregação plaquetária via receptores do ADP (Multiplate ADP) e pela via do ácido aracdônico (Multiplate ASPI). Os resultados são obtidos em velocidade de agregação ou área sob a curva (AUC), e quanto maiores, maior a reatividade plaquetária. Os testes Multiplate ADP e Multiplate ASPI foram realizados duas vezes em cada visita do estudo: em repouso e imediatamente após o TCP.
- c)** Plaquetas reticuladas analisadas pelo Sysmex XN-2000 (Sysmex, Norderstedt, Alemanha): medida da fração de plaquetas com alta intensidade de fluorescência ou reticuladas (FPR – fração de plaquetas reticuladas) no canal reticulócito/plaqueta por citometria de fluxo por meio de corante contendo polimetano e oxazine, o qual penetra na membrana celular e cora o RNA das plaquetas jovens. As células marcadas passam por um cilindro de laser diodo semiconductor que mede a dispersão (volume celular) e a intensidade da

fluorescência (conteúdo de RNA). A FPR foi determinada duas vezes em cada visita do estudo: em repouso e imediatamente após o TCP.

- d)** Volume plaquetário médio (VPM): a contagem por impedância é baseada na análise dimensional, na qual as plaquetas são identificadas por seu tamanho. As plaquetas são contadas ao passar por um orifício gerando pulso elétrico, que é proporcional ao volume plaquetário. Gera-se um histograma plaquetário e uma curva em que cada plaqueta é classificada e distribuída de acordo com seu tamanho. O VPM é diretamente derivado da análise desta curva, sendo obtido pela divisão do plaquetócrito (volume ocupado pelas plaquetas em relação a um determinado volume sanguíneo) pelo número de plaquetas. O VPM foi determinado duas vezes em cada visita do estudo: em repouso e imediatamente após o TCP. Valor de referência 6,5 a 12fL.
- e)** Glicose: dosada por método enzimático automatizado, utilizando-se kit específico para o equipamento automatizado Dimension RXL (Siemens Healthcare, Newark, EUA). Valores de referência: 70-99 mg/dL.
- f)** Colesterol total: Dosado por método Colorimétrico enzimático, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL (Siemens Healthcare, Newark, EUA). Valor de referência: < 200 mg/dL.

-
- g)** HDL-colesterol: Dosado por método Colorimétrico enzimático homogêneo, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL (Siemens Healthcare, Newark, EUA). Valor de referência: ≥ 40 mg/dL.
- h)** Colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDL-C): estimado pela equação de Friedewald. Valores de referência: <100 mg/dL – Ótimo; 100-129 mg/dL – Desejável; 130-159 mg/dL – Limítrofe; 160-189 mg/dL – Alto; ≥ 190 mg/dL – Muito alto.
- i)** Triglicérides: Dosado por método colorimétrico enzimático, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL (Siemens Healthcare, Newark, EUA). Valores de referência: <150 mg/dL – Ótimo; 150-199 mg/dL – Limítrofe; 200-499 mg/dL – Alto; ≥ 500 mg/dL – Muito alto.
- j)** Hemoglobina Glicada: Dosada pelo método Imunoturbidimétrico, certificado pelo *National Glycohemoglobin Standardization Program*, utilizando-se o kit Flex reagente cartridge, equipamento Dimension RXL (Siemens Healthcare, Newark, EUA). Valores de referência: 4,8 – 6,0%.
- k)** PCR ultrasensível (PCR-us): determinado por ensaio tipo enzima-imunométrico quimioluminescente, com dois sítios, desenvolvido para

o uso com o analisador automatizado IMMULITE para a determinação quantitativa de IL-6 no soro (Sistema Immulite, DPC medLab, Los Angeles, EUA). Valor de referência < 5,0 mg/L

- l)** Peptídeo natriurético tipo B (BNP): A concentração plasmática de BNP é obtida por meio de um imunoenensaio tipo sanduiche de duas etapas que utiliza tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. Para isso, é utilizado o kit comercial ADVIA Centaur (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, EUA), sendo os resultados expressos em pg/mL. Valor de referência < 100 pg/mL.
- m)** Teste da transferência de lipídeos da nanoemulsão artificial para o HDL: as amostras de plasma com EDTA em um volume de 200µL são incubadas com 50µL nanoemulsão artificial em 3H-colesterol-ésteres e 14C-fosfolípidos ou com 14C-colesterol livre e 3H-triglycerides. Após 1h em agitação do banho a 37°C, o reagente de precipitação que consiste em 250µL da solução com 0,02% de sulfato de dextran (50.000 MW) e 0,3 mol/L de MgCl₂ que é adicionado à incubação, que é então misturado por 30 segundos e centrifugado por 10 minutos. Finalmente, 250µL do sobrenadante são transferidos para frascos de contagem contendo 5µL de solução de cintilação (Packard BioScience, Groeningen, Holanda) e a radioatividade, medida com um analisador de cintilação líquida modelo TR 1600 Packard (Packard Instrument Company, Palo Alto, EUA). Amostras de plasma branco

serão substituídas por 200µL de solução TRIS. Os resultados de transferência radioativos da nanoemulsão para HDL são expressos como % da radioatividade total incubada encontrada no sobrenadante contendo HDL.

3.4.4 Teste cardiopulmonar de exercício

Nas visitas 1 e 2 os pacientes foram submetidos à avaliação da capacidade cardiorrespiratória por TCP .Inicialmente, realizou-se o eletrocardiograma convencional de 12 derivações em repouso. Em seguida, os pacientes realizaram um TE em cicloergômetro (Medfit 400L, Medical Fitness Equipment, Maarn, Holanda), seguindo protocolo em rampa, mantendo velocidade de 60 rotações por minuto com incrementos de carga de 5W a 20W por minuto até a exaustão. Após o período de exercício, os pacientes realizaram um período de recuperação por 6 minutos.

Durante o teste de esforço, o comportamento cardiovascular foi continuamente avaliado utilizando-se eletrocardiógrafo com doze derivações simultâneas. A frequência cardíaca foi registrada em repouso com o indivíduo posicionado no cicloergômetro, ao final de cada minuto do teste de esforço e no 1º, 2º, 4º e 6º minuto do período de recuperação. A pressão arterial foi avaliada no repouso, a cada 2 minutos de exercício e no 1º, 2º, 4º e 6º minuto do período de recuperação.

A capacidade física foi avaliada pela medida direta do VO₂ máximo, no momento em que o paciente não era mais capaz de manter a velocidade do cicloergômetro em 60 rotações por minuto (exaustão). Simultaneamente ao teste

de esforço, o indivíduo foi conectado a um ergoespirômetro computadorizado (SensorMedics, California, EUA) por meio de um sistema de válvula e traqueia em que a ventilação pulmonar (VE) é medida por um sensor de fluxo a cada expiração do indivíduo. Por meio de sensores de oxigênio (O_2) e de dióxido de carbono (CO_2) foram analisadas as concentrações de O_2 e CO_2 , respectivamente, a cada ciclo respiratório. A partir das análises da VE e das concentrações dos gases expirados, foram calculados o VO_2 e a produção de dióxido de carbono..

Além da determinação da capacidade funcional máxima do paciente, foram determinados o limiar anaeróbio e o ponto de compensação respiratória, utilizados para a prescrição da intensidade de treinamento físico. O teste foi considerado máximo quando se atingiu quociente respiratório (QR), determinado pela fração da produção de CO_2 pelo consumo de O_2 , maior ou igual a 1,1.

O limiar anaeróbio foi registrado no minuto em que o paciente apresentou valores de equivalente ventilatório de oxigênio (VE/VO_2) e pressão parcial de oxigênio no final da expiração ($PetO_2$) mais baixos, antes de iniciarem um aumento progressivo e incremento do QR não linear.

O ponto de compensação respiratória foi considerado no minuto em que o paciente apresentou valores de equivalente ventilatório de gás carbônico (VE/VCO_2) mais baixos antes de iniciarem um aumento progressivo e pressão parcial de gás carbônico no final da expiração ($PetCO_2$) mais alto antes de começar a diminuir.

A avaliação dos dados e laudos dos TCPs foram realizados por investigadores cegos ao grupo de alocação dos pacientes.

3.4.5 Avaliação da Atividade Nervosa Simpática Muscular

A ANSM foi avaliada pela técnica de microneurografia em que se afere diretamente o potencial da via pós-gangliônica eferente, do fascículo nervoso muscular, na parte posterior do nervo fibular, imediatamente inferior à cabeça fibular. A medida foi realizada após os pacientes estarem em repouso e captada por 10 minutos por meio do implante de um microeletrodo no nervo fibular e de um microeletrodo referência, na pele, a aproximadamente 1 cm do primeiro. Os eletrodos foram conectados a um pré-amplificador e a um filtro de sinal. O sinal captado da ANSM foi registrado em um polígrafo numa velocidade de 5 mm/s e posteriormente analisado por meio da contagem do número de descargas (*bursts*) ocorridas em cada minuto. Adicionalmente, o valor de *bursts*/min foi ajustado para a frequência cardíaca (*burst*/100 batimentos cardíacos). A realização da microneurografia e a análise da ANSM foram realizadas por investigadores cegos ao grupo de alocação dos participantes.

3.4.6 Programa de reabilitação cardiovascular baseada em exercício

Os pacientes randomizados para grupo intervenção iniciaram o programa de exercício supervisionado após a visita 1 na Unidade de Reabilitação Cardiovascular e Fisiologia do Exercício do InCor/ HCFMUSP. O programa com duração de 14 ± 2 semanas consistia em 2 a 3 sessões de treinamento por semana (com objetivo de se completar 36 sessões) sendo que em cada uma delas se realizava: 5 minutos de alongamento muscular, 40

minutos de atividade aeróbica em bicicleta ergométrica, 10 minutos de exercícios de resistência muscular, 5 minutos de desaquecimento concluindo-se o treino com novo alongamento.

A intensidade do exercício foi estabelecida pela faixa de frequência cardíaca correspondente ao limiar anaeróbio e a 10% abaixo do valor da frequência cardíaca no ponto de compensação respiratória no TCP realizado durante a visita 1.

3.5 Análise estatística

Os dados estão apresentados como números absolutos e percentuais, quando variáveis categóricas, e médias (\pm desvios-padrão - DP) ou medianas (intervalos interquartis - IIQ), de acordo com a distribuição Gaussiana ou não-gaussiana, respectivamente, para as variáveis contínuas.

As variáveis categóricas foram comparadas entre os grupos com a utilização do teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando indicado. Para comparações entre proporções de amostras pareadas foi utilizado teste de McNemar.

As variáveis contínuas foram classificadas quanto à distribuição Gaussiana ou não-gaussiana de acordo com os testes de Kolmogorov-Smirnov (para amostras com dimensão igual ou superior a 30) ou Shapiro-Wilk (para amostras com dimensão inferior a 30).

Para comparação de amostras independentes foram utilizados os testes t-Student para amostras independentes (distribuição Gaussiana) ou Mann-Whitney (distribuição não-gaussiana). Para comparação de amostras pareadas

foram utilizados teste t de Student para amostras pareadas (se distribuição Gaussiana) ou teste de Wilcoxon (se distribuição não-gaussiana).

Na avaliação da correlação entre variáveis contínuas foram realizados teste de correlação de Pearson com determinação do coeficiente de correlação de Pearson (r) ou teste de correlação de Spearman, com determinação do coeficiente de correlação de postos de Spearman (r_s) quando apropriado.

Nas análises de subgrupos foram realizadas análises de regressão múltipla com interação, considerando como variável dependente o valor da reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no final do seguimento e como variáveis independentes o grupo de alocação (controle ou intervenção), cada um dos subgrupos pré-especificados e os respectivos termos de interação.

Em análise post hoc foi utilizado modelo de regressão logística binária para se determinar variáveis associadas de forma independente à resistência ao antagonista do receptor P2Y₁₂ no final do seguimento (variável dependente: VerifyNow P2Y₁₂ ≥ 208 PRU; variáveis independentes: sexo, idade, diabetes, hematócrito e VO₂ máximo no final do seguimento).

Somente os pacientes que completaram o seguimento no protocolo foram considerados para análise do objetivo principal do estudo. Os pacientes que interromperam o seguimento precocemente (por decisão do paciente ou por algum critério clínico ao longo do estudo como re-hospitalização por novo evento agudo ou suspensão da DAP) foram excluídos da análise do objetivo principal.

Foram considerados estatisticamente significativos os resultados com valor de p inferior a 0,05 bicaudal.

O software utilizado para a análise estatística foi o IBM SPSS 25.0 Statistics.

3.6 Financiamento

Este estudo faz parte do projeto temático “Agregação e antiagregação plaquetária em pacientes com doença arterial coronária” (processo número 2014/01021-4) financiado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Não houve qualquer participação da fonte patrocinadora no desenho, execução ou análise estatística dos resultados obtidos.

3.7 Questões éticas

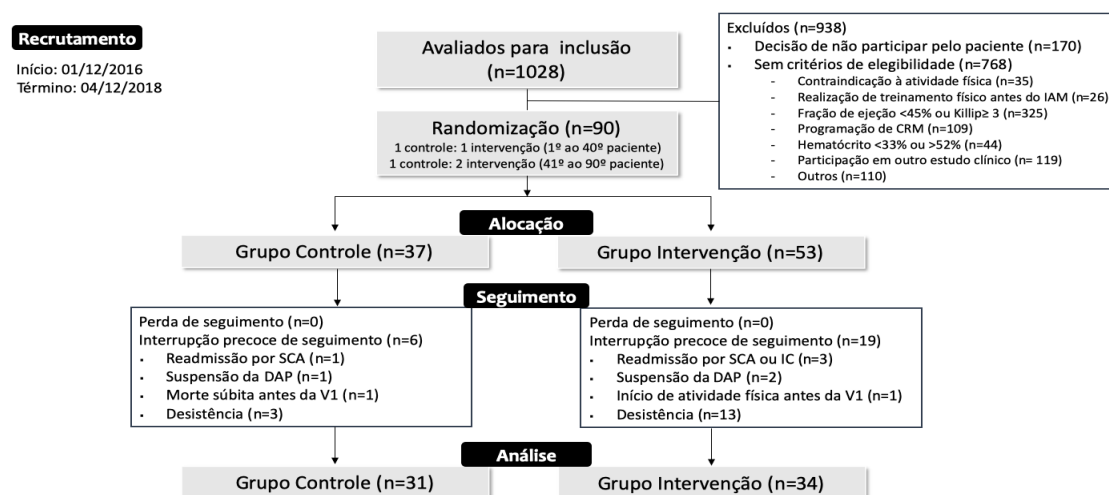
Este protocolo está de acordo com as recomendações contidas na declaração de Helsinki e foi aprovado, juntamente com o TCLE, pela Comissão Científica do InCor sob o número 4086/14/066 e pela Comissão de Ética em Pesquisa do HC/FMUSP (CAAE: 35079514.8.0000.0068). Todos os voluntários foram devidamente esclarecidos sobre o protocolo experimental. A assinatura de duas vias do TCLE, após leitura e compreensão integral do mesmo, foi o primeiro procedimento realizado para cada paciente participante da pesquisa.

4 Resultados

4.1 Recrutamento e fluxo de participantes

Entre 01 de dezembro de 2016 e 04 de dezembro de 2018 foram analisados 1.028 pacientes internados com diagnóstico de IAM com ou sem supra de ST. Destes, duzentos e sessenta pacientes eram elegíveis para o protocolo, sendo que 90 pacientes aceitaram participar e foram randomizados.

Foram alocados 37 pacientes no grupo controle e 53 pacientes no grupo intervenção. Não houve perdas de seguimento, porém, no grupo intervenção o número de pacientes que interromperam precocemente o seguimento foi maior, principalmente às custas de dificuldade em aderir ao programa de exercícios (figura 2). Considerou-se para as análises do objetivo principal do estudo os 65 pacientes que concluíram o seguimento (31 pacientes no grupo controle e 34 pacientes no grupo intervenção).



IAM: infarto agudo do miocárdio; CRM: cirurgia de revascularização miocárdica; SCA: síndrome coronariana aguda; DAP: dupla antiagregação plaquetária; IC: insuficiência cardíaca; V1: visita

Figura 2 - Fluxograma do processo de recrutamento, alocação, seguimento e análise de dados [CONSORT(1)]

4.2 Características basais da população estudada

São apresentadas as características basais da população total (n=90) na tabela 1a e dos pacientes incluídos na análise do objetivo principal (n=65) na tabela 1b. Os grupos eram balanceados entre si em relação a idade, sexo, antecedentes e fatores de risco cardiovasculares, com exceção de maior prevalência de tabagismo observada no grupo intervenção no total da população incluída (tabela 1a).

Os resultados dos exames laboratoriais basais [valores máximos de PCR, troponina e creatinoquinase MB massa (CKMB-massa) ou primeiros exames coletados durante a hospitalização para os demais] e a fração de ejeção pelo ecocardiograma transtorácico realizado durante a hospitalização pelo evento-índice também são mostrados nas tabelas 1a e 1b. Não houve diferença nos parâmetros laboratoriais e na fração de ejeção entre os grupos na população total (tabela 1a). Quando se analisou somente a população incluída na análise do objetivo principal (n=65), observou-se níveis mais elevados de PCR e CKMB-massa e menor valor de triglicérides no grupo intervenção (tabela 1b).

Tabela 1a: Características basais da população total.

	Total (n=90)	Controle (n=37)	Intervenção (n=53)	p
Idade (anos), média (DP)	58,2 (±10,1)	58,0 (±10,9)	58,5 (±9,6)	0,77 ^a
Idoso,* n(%)	27 (30%)	10 (27,0%)	17 (32%)	0,61 ^b
Sexo masculino, n(%)	69 (76,7%)	28 (75,7%)	41 (77,4%)	0,85 ^b
Comorbidades				
HAS, n(%)	53 (58,9%)	23 (62,2%)	30 (56,6%)	0,60 ^b
Dislipidemia, n(%)	29 (32,2%)	14 (37,8%)	15 (28,3%)	0,34 ^b
IAM prévio, n(%)	15 (16,7%)	5 (13,5%)	10 (18,9%)	0,50 ^b
Diabetes mellitus, n(%)	28 (31,5%)	15 (40,5%)	13 (25,0%)	0,12 ^b
Tabagismo atual, n(%)	34 (37,8%)	9 (24,3%)	25 (47,2%)	0,03 ^b
AVC prévio, n(%)	6 (6,7%)	4 (10,8%)	2 (3,8%)	0,19 ^c
ICP prévia, n(%)	12 (13,3%)	5 (13,5%)	7 (13,2%)	1,0 ^c
CRM prévia, n(%)	6 (6,7%)	3 (8,1%)	3 (5,7%)	0,69 ^c
Exames laboratoriais e ecocardiograma				
Hemoglobina (g/dL), média (DP)	14,8 (±1,4)	14,6 (±1,3)	15,0 (±1,5)	0,24 ^a
Leucócitos (10 ³ /mm ³), média (DP)	10,1 (3,0)	10,3 (±3,6)	10,0 (±2,5)	0,57 ^a
Plaquetas (10 ³ /mm ³), média (DP)	236,7 (±52,7)	249,1 (±55,3)	228,0 (±49,5)	0,06 ^a
VPM (fL), mediana (IIQ)	10,6 (10,0-11,5)	10,4 (10,0-11,0)	10,9 (10,0-11,7)	0,13 ^d
Colesterol total (mg/dL), mediana (IIQ)	198,0 (158,5-234,8)	179,0 (151,0-237,5)	213,5 (174,8-234,8)	0,13 ^d
LDL-C (mg/dL), média (DP)	124,4(±46,0)	113,9 (±51,9)	131,5 (±40,5)	0,09 ^a
HDL-C (mg/dL), mediana (IIQ)	39,0 (33,2-49,8)	37,5 (32,0-46,0)	40,5 (36,3-50,0)	0,14 ^d
Triglicérides (mg/dL), mediana (IIQ)	139,5 (101,0-207,8)	146,0 (113,8-250,8)	135,0 (94,3-198,0)	0,16 ^d
PCR (mg/L), mediana (IIQ)	9,9 (4,1-30,6)	6,1 (3,2-22,1)	11,7 (4,8-42,4)	0,08 ^d

Tabela 1a: Características basais da população total. (continuação)

BNP (pg/ml), mediana (IIQ)	113,5 (58,8 – 216,0)	100,5 (60,5 – 178,8)	147,5 (45,5 – 366,8)	0,44 ^d
Creatinina (mg/dL), mediana (IIQ)	1,0 (0,9-1,2)	1,1 (0,9-1,3)	1,0 (0,9-1,2)	0,17 ^d
TFG (ml/min/1,73m ²), mediana (IIQ)	79,0 (66,0-95,3)	75,0 (63,5-86,7)	81,0 (67,0-100,5)	0,12 ^d
Hb1Ac (%), mediana (IIQ)	5,8 (5,3 – 6,4)	5,9 (5,5 – 7,3)	5,7 (5,3 – 6,4)	0,29 ^d
Troponina pico (ng/mL), mediana (IIQ)	28,4 (7,3 – 50,0)	27,0 (3,6 – 50,0)	29,0 (8,2 – 50,0)	0,73 ^d
CKMB-massa pico (ng/mL), mediana (IIQ)	41,5 (14,5 – 154,5)	48,0 (12,9 – 142,5)	40,7 (16,2 – 194,0)	0,51 ^d
Fração de ejeção (%), mediana (IIQ)	50,0 (55,0-61,3)	55,0 (50,0-60,0)	56,0 (50,0-62,0)	0,14 ^d

^aTeste t de Student; ^bQui-quadrado; ^cTeste exato de Fisher; ^dMann-Whitney; *idade ≥ 65anos. HAS: hipertensão arterial sistêmica; IAM: infarto agudo do miocárdio; AVC: acidente vascular cerebral; ICP: intervenção coronária percutânea; CRM: cirurgia de revascularização miocárdica; VPM: volume plaquetário médio; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; PCR: proteína C-reativa; BNP: peptídeo natriurético tipo B; TFG: taxa de filtração glomerular pela fórmula MDRD (70); Hb1Ac: hemoglobina glicada; CKMB-massa: creatinoquinase MB massa.

Tabela 1b: Características basais da população incluída na análise do objetivo principal.

	Total (n=65)	Controle (n=31)	Intervenção (n=34)	p
Idade (anos), média (DP)	58,9 (±9,8)	58,5 (±11)	59,1 (±8,9)	0,81 ^a
Idoso,* n(%)	20 (30,8%)	9 (29,0%)	11 (32,4%)	0,98 ^b
Sexo masculino, n(%)	48 (73,8%)	23 (74,2%)	25 (73,5%)	1,0 ^b
Comorbidades				
HAS, n(%)	38 (58,5%)	21 (67,7%)	17 (50,0%)	0,23 ^b
Dislipidemia, n(%)	24 (36,9%)	12 (38,7%)	12 (35,3%)	0,98 ^b
IAM prévio, n(%)	9 (13,8%)	4 (12,9%)	5 (14,7%)	1,0 ^b
Diabetes mellitus, n(%)	21 (32,3%)	13 (41,9%)	8 (23,5%)	0,19 ^b
Tabagismo atual, n(%)	19 (29,2%)	6 (19,4%)	13 (38,2%)	0,16 ^b

Tabela 1b: Características basais da população incluída na análise do objetivo principal. (continuação)

9,5	6 (9,2%)	4 (12,9%)	2 (5,9%)	0,41 ^c
ICP prévia, n(%)	8 (12,3%)	4 (12,9%)	4 (11,8%)	1,0 ^c
CRM prévia, n(%)	4 (6,2%)	2 (6,5%)	2 (5,9%)	1,0 ^c
Exames laboratoriais e ecocardiograma				
Hemoglobina (g/dL), média (DP)	14,7 (±1,4)	14,5 (±1,3)	14,8 (±1,5)	0,29 ^d
Leucócitos (10 ³ /mm ³), média (DP)	10,1 (3,3)	10,2 (±3,8)	10,1 (±2,8)	0,89 ^d
Plaquetas (10 ³ /mm ³), média (DP)	239,5 (±53,0)	248,8 (±56,9)	231,1 (±48,5)	0,18 ^d
VPM (fL), média (DP)	10,5 (±1,1)	10,4 (±1,1)	10,5 (±1,2)	0,73 ^d
Colesterol total (mg/dL), mediana (IIQ)	190,5 (153,3 – 233,8)	184,0 (151,0 – 239,0)	204,0 (170,5– 232,5)	0,48 ^e
LDL-C (mg/dL), média (DP)	124,6(±47,0)	116,4 (±53,4)	132,1 (±39,8)	0,22 ^d
HDL-C (mg/dL), média (DP)	40,8 (±10,9)	38,3 (±11,7)	43,0 (±9,8)	0,11 ^d
Triglicérides (mg/dL), média (DP)	178,0 (141,7)	220,1 (±177,5)	138,8 (±82,8)	0,03 ^d
PCR (mg/L), mediana (IIQ)	10,4 (4,3 – 30,8)	6,4 (3,6 – 24,2)	17,8 (5,7 – 42,4)	0,04 ^e
BNP (pg/ml), mediana (IIQ)	109,5 (54,5 – 185,5)	106,0 (62,0 – 190,0)	114,0 (38,0 – 178,0)	0,67 ^e
Creatinina (mg/dL), média (DP)	1,0 (±0,3)	1,1 (±0,2)	1,0 (±0,3)	0,23 ^d
TFG (ml/min/1,73m ²), média (DP)	79,4 (±24,2)	74,8 (±23,5)	83,7 (±24,4)	0,14 ^d
Hb1Ac (%), mediana (IIQ)	5,9 (5,5 – 6,4)	6,3 (5,8 – 8,3)	5,8 (5,3 – 6,4)	0,07 ^e
9,5	32,0 (10,1 – 50,0)	25,0 (2,9 – 50,0)	49,2 (13,2 – 50,0)	0,12 ^e
CKMB-massa pico (ng/mL), mediana (IIQ)	44,0 (14,5 – 155,0)	29,0 (8,9 – 111,0)	58,8 (22,1 – 248,7)	0,045 ^e
Fração de ejeção (%), média (DP)	55,4 (6,8)	54,7 (±7,3)	56,1 (±6,2)	0,42 ^d

^aTeste t de Student; ^bQui-quadrado; ^cTeste exato de Fisher; ^dTeste T de Student; ^eMann-Whitney. *idade ≥ 65anos. HAS: hipertensão arterial sistêmica; IAM: infarto agudo do miocárdio; AVC: acidente vascular cerebral; ICP: intervenção coronária percutânea; CRM: cirurgia de revascularização miocárdica; VPM: volume plaquetário médio; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; PCR: proteína C-reativa; BNP: peptídeo natriurético tipo B; TFG: taxa de filtração glomerular pela fórmula MDRD (70); Hb1Ac: hemoglobina glicada; CKMB-massa: creatinoquinase MB massa.

Comparando-se as características basais do grupo de pacientes excluídos (n=25) ao de incluídos (n=65) na análise do objetivo principal não houve diferença em relação a idade (p=0,57), sexo (p=0,31), hipertensão (p=0,89), dislipidemia (p=0,12), história de IAM prévio (p=0,34), diabetes mellitus (p=0,78), AVC prévio (p=0,13), intervenção coronária percutânea (p=0,44) ou cirurgia de revascularização miocárdica (p=0,67) prévias. Houve maior frequência de tabagismo entre os pacientes que não completaram em relação aos que completaram o seguimento: 60,0% vs. 21,1%, respectivamente, (p=0,007).

Em relação aos exames laboratoriais basais, observou-se maiores níveis de hemoglobina (p=0,043) e de VPM (p=0,26) entre os pacientes excluídos (n=25) em relação aos incluídos (n=65) da análise do objetivo principal. Nos demais exames laboratoriais basais não se observou diferença significativa entre os dois grupos: leucócitos (p=0,83), plaquetas (p=0,57), colesterol total (p=0,60), LDL-C (p=0,99), HDL-C (p=0,49), triglicérides (p=0,61), PCR (p=0,66), creatinina (p=0,70), taxa de filtração glomerular (p=0,26), hemoglobina glicada (p=0,19), picos de troponina (p=0,49) e de CKMB-massa (p=0,67). Também não se observou diferença significativa entre pacientes incluídos em relação aos excluídos da análise do objetivo principal quanto à fração de ejeção do ventrículo esquerdo pelo ecocardiograma realizada durante a internação (p=0,67).

Em relação às medicações utilizadas no momento da inclusão (tabelas 2a e 2b) e às características relacionadas ao evento-índice (tabelas 3a e 3b), os grupos também se mostraram bem equilibrados, tanto na população total quanto no grupo incluído na análise do objetivo principal.

Tabela 2a: Medicacões basais utilizadas pela população global.

Medicacão	Total (n=90)	Controle (n=37)	Intervençã (n=53)	p*
AAS, n(%)	90 (100%)	37 (100%)	53 (100%)	1,0 ^a
Clopidogrel, n(%)	88 (97,8%)	35 (94,6%)	53 (100%)	0,17 ^a
Ticagrelor, n(%)	2 (2,2%)	2 (5,4%)	0 (0%)	0,17 ^a
Estatina, n(%)	88 (97,8%)	36 (97,3%)	52 (98,1%)	1,0 ^a
BBloq, n(%)	68 (75,6%)	26 (70,3%)	42 (79,2,3%)	0,33 ^b
iECA/BRA, n(%)	64 (71,1%)	24 (64,9%)	40 (75,5%)	0,28 ^b
Espironolactona, n(%)	6 (6,7%)	4 (10,8%)	2 (3,8%)	0,22 ^a
IBP, n(%)	26 (28,9%)	10 (27,0%)	16 (30,2%)	0,75 ^b
Ranitidina, n(%)	52 (57,8%)	20 (54,1%)	32 (60,4%)	0,55 ^b

AAS: ácido acetilsalicílico; BBloq: betabloqueador; iECA: inibidor da enzima de conversão da angiotensina II; BRA: bloqueador do receptor de angiotensina-II; IBP: inibidor de bomba de prótons; *valor de p para comparação entre grupo controle e grupo intervençã; ^a Teste exato de Fisher; ^b Qui-quadrado

Tabela 2b: Medicções basais utilizadas pela população incluída na análise “por protocolo”.

Medicção	Total (n=65)	Controle (n=31)	Intervenção (n=34)	p*
AAS, n(%)	65 (100%)	31 (100%)	34 (100%)	1,0 ^a
Clopidogrel, n(%)	63 (96,9%)	29 (93,5%)	34 (100%)	0,22 ^a
Ticagrelor, n(%)	2 (3,1%)	2 (6,5%)	0 (0%)	0,22 ^a
Estatina, n(%)	64 (98,5%)	30 (96,8%)	34 (100%)	0,48 ^a
BBloq, n(%)	48 (73,8%)	21 (67,7%)	27 (79,4%)	0,29 ^b
iECA/BRA, n(%)	47 (72,3%)	21 (67,7%)	26 (76,5%)	0,43 ^b
Espironolactona, n(%)	6 (9,2%)	4 (12,9%)	2 (5,9%)	0,41 ^a
IBP, n(%)	22 (33,8%)	10 (32,3%)	12(35,3%)	0,80 ^b
Ranitidina, n(%)	36 (55,4%)	16 (51,6%)	20 (58,8%)	0,56 ^b

AAS: ácido acetilsalicílico; BBloq: betabloqueador; iECA: inibidor da enzima de conversão da angiotensina II; BRA: bloqueador do receptor de angiotensina-II; IBP: inibidor de bomba de prótons; *valor de p para comparação entre grupo controle e grupo intervenção; ^a Teste exato de Fisher; ^b Qui-quadrado

Tabela 3a: Características do evento-índice da população total

Características do IAM	Total (n=90)	Controle (n=37)	Intervenção (n=53)	p*
Killip > 1, n(%)	11 (12,2%)	3 (8,1%)	8 (15,1%)	0,52 ^a
Escore GRACE(71), mediana (IIQ)	129,0 (110,1 – 146,5)	128,0 (118,0-148,0)	134,0 (105,0-147,0)	0,74 ^b
IAMCSST, n(%)	46 (61,1%)	18 (48,6%)	28 (52,8%)	0,70 ^c
Cineangiocoronariografia:				
– Coronárias normais**, n(%)	2 (2,2%)	0 (0%)	2 (3,8%)	
– Uniarterial, n(%)	30 (33,7%)	14 (37,8%)	16 (30,8%)	0,54 ^c
– Biarterial, n(%)	20 (22,5%)	7 (18,9%)	13 (25,0%)	
– Triarterial, n(%)	37 (41,6%)	16 (43,2%)	21 (40,4%)	
Tratamento do infarto agudo do miocárdio:				
– Fibrinolítico, n(%)	17 (18,9%)	7 (18,9%)	10 (18,9%)	0,99 ^c
– ICP primária, n(%)	24 (26,7%)	9 (24,3%)	15 (28,3%)	0,68 ^c
– ICP de resgate, n(%)	9 (10,0%)	3 (8,1%)	6 (11,3%)	0,73 ^c
– Stent farmacológico, n(%)	10 (11,1%)	5 (13,5%)	5 (9,4%)	0,74 ^c
– Stent convencional, n(%)	71 (78,9%)	29 (78,4%)	42 (79,2%)	0,92 ^c
– Tratamento clínico, n(%)	11 (12,2%)	3 (8,1%)	8 (15,1%)	0,52 ^c

IAMCSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; ICP: intervenção coronária percutânea. *valor de p para comparação entre grupo controle e grupo intervenção; **ausência de obstruções $\geq 50\%$ pela cineangiocoronariografia; ^a Teste exato de Fisher; ^b Mann-Whitney; ^c Qui-quadrado.

Tabela 3b: Características do evento-índice da população incluída na análise do objetivo principal.

Características do IAM	Total (n=65)	Controle (n=31)	Intervenção (n=34)	p*
Killip > 1, n(%)	10 (15,4%)	3 (9,7%)	7 (20,6%)	0,31 ^a
Escore GRACE(71), mediana (IIQ)	134,0 (121,5 – 155,5)	128,0 (120,0-159,0)	139,5 (122,5-155,3)	0,49 ^b
IAMCSST, n(%)	39 (60,0%)	16 (51,6%)	23 (67,6%)	0,29 ^c
Cineangiocoronariografia:				
– Coronárias normais**, n(%)	1 (1,5%)	0 (0%)	1 (2,9%)	
– Uniarterial, n(%)	22 (33,8%)	10 (32,2%)	12 (35,3%)	0,50 ^c
– Biarterial, n(%)	15 (23,1%)	6 (19,4%)	9 (26,5%)	
– Triarterial, n(%)	27 (41,5%)	15 (48,4%)	12 (35,3%)	
Tratamento do infarto agudo do miocárdio:				
– Fibrinolítico, n(%)	15 (23,1%)	6 (19,4%)	9 (26,5%)	0,70 ^c
– ICP primária, n(%)	20 (30,8%)	8 (25,8%)	12 (35,3%)	0,58 ^c
– ICP de resgate, n(%)	8 (12,3%)	3 (9,7%)	5 (14,7%)	0,71 ^a
– Stent farmacológico, n(%)	9 (13,8%)	5 (16,1%)	4 (11,8%)	0,73 ^a
– Stent convencional, n(%)	53 (81,5%)	24 (77,4%)	29 (85,3%)	0,62 ^c
– Tratamento clínico, n(%)	6 (9,2%)	3 (9,7%)	3 (8,8%)	1,0 ^a

IAMCSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; ICP: intervenção coronária percutânea. *Valor de p para comparação entre grupo controle e grupo intervenção; **ausência de obstruções ≥50% pela cineangiocoronariografia; ^a Teste exato de Fisher; ^b Mann-Whitney; ^c Qui-quadrado.

4.3 Resultados: efeito do treinamento físico

A visita 1 foi realizada em 31,9 ($\pm 4,0$) dias após o IAM e o período médio de seguimento (intervalo entre as visitas 1 e 2) foi de 13,8 ($\pm 1,4$) semanas. Os pacientes alocados no grupo intervenção compareceram em média(DP) a 26,2($\pm 9,2$) sessões de treinamento, o que corresponde a 72,5% de aderência ao programa. Entre os pacientes do grupo controle, apenas um (3,2%) referiu prática de atividade física regular e não supervisionada (≥ 150 minutos de atividade física de moderada intensidade por semana) durante o seguimento no estudo.

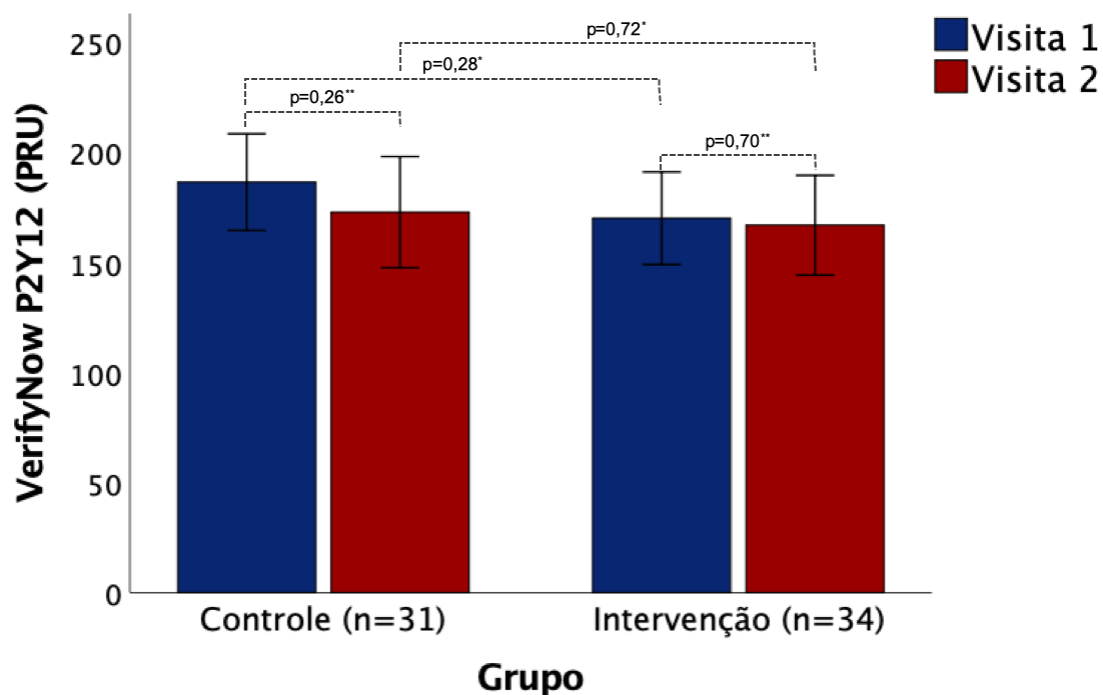
Os pacientes do grupo intervenção demonstraram melhora da capacidade cardiorrespiratória ao final do seguimento em relação ao basal, caracterizada pela elevação estaticamente significativa do VO_2 máximo na visita 2 ($24,2 \pm 6,8$ ml/kg/min) em relação ao valor obtido na visita 1 ($21,8 \pm 5,2$ ml/kg/min), $p=0,005$. No grupo controle, por outro lado, o valor do VO_2 máximo não se alterou significativamente durante o seguimento: $20,8 \pm 4,6$ ml/kg/min na visita 1 e $21,7 \pm 5,0$ ml/kg/min na visita 2, $p=0,18$. Quando comparados grupo intervenção vs. grupo controle, apesar de maior valor numérico de VO_2 máximo alcançado pelo grupo intervenção, a diferença entre os grupos não atingiu significância estatística ($p=0,09$).

4.4 Objetivo primário: comparação da reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ nos grupos controle e intervenção

Na visita 1, a reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no grupo controle foi 186,5 (±59,8) PRU e no grupo intervenção foi 170,1 (±60,3) PRU, não havendo diferença significativa entre os grupos no início do seguimento ($p=0,28$).

Ao final do período de seguimento, na visita 2, o valor do VerifyNow P2Y₁₂ no grupo controle foi 172,8(±68,9) PRU e no grupo intervenção 166,9(±65,1) PRU, sendo a diferença entre os grupos não estatisticamente significativa ($p=0,72$, diferença média=5,9 PRU; IC 95% da diferença -27,3 a 39,1). Tampouco houve diferença nas médias da reatividade plaquetária na visita 1 em relação à visita 2 nos grupos controle ($p=0,26$, diferença média=13,6; IC 95% da diferença -10,5 a 37,8) e intervenção ($p=0,70$, diferença média=3,2; IC 95% da diferença -13,6 a 19,9). Os resultados estão representados na figura 3.

Importante salientar que, apesar de ter havido alteração da terapia antiplaquetária entre a randomização e a visita 1, quando um paciente em cada grupo substituiu clopidogrel pela ticagrelor, entre as visitas 1 e 2 os pacientes mantiveram terapia antiplaquetária estável, não havendo alteração de dose ou substituição de antiplaquetários durante o seguimento. Também não houve diferença estatisticamente significativa em relação ao uso de antiplaquetários mais potentes nos dois grupos entre as visitas 1 e 2: o ticagrelor foi utilizado em 3 pacientes (9,7%) no grupo controle e em 1 paciente (2,9%) no grupo intervenção ($p=0,30$). Os demais pacientes mantiveram uso de clopidogrel e nenhum paciente fez uso de prasugrel.



*Teste t de Student; **Teste t de Student para amostras pareadas.

Figura 3 - Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e no final do seguimento (visita 2)

4.5 Objetivos secundários

- a. Avaliar a reatividade plaquetária imediatamente antes e após TCP no início do seguimento na população total;

Setenta e nove pacientes foram submetidos ao TCP na visita 1. Demonstrou-se elevação significativa da reatividade plaquetária tanto pelo

Multiplate ADP quanto pelo Multiplate ASPI após o TCP em relação à medida de repouso na visita 1 (tabela 4).

Além dos valores do Multiplate ADP e ASPI, analisaram-se também outros parâmetros plaquetários que também se associam à reatividade plaquetária: o VPM e os índices de plaquetas reticuladas antes e após o TCP. Observou-se aumento na contagem de plaquetas reticuladas após o exercício (tabela 4), o que pode justificar, pelo menos em parte, o aumento da reatividade plaquetária induzido pelo esforço físico intenso.

O aumento da contagem de plaquetas reticuladas, porém, ocorreu de forma proporcional ao aumento de plaquetas totais, uma vez que a fração de plaquetas reticuladas não se alterou de forma significativa após o TCP: a contagem de plaquetas totais [mediana (IIQ)] no repouso foi 218.000 (191.000 – 249.000)/mm³ e pós-TCP 240.000(206.000 – 280.000)/mm³ (p<0,001) e a fração de plaquetas reticuladas [mediana (IIQ)] no repouso foi 4,1 (2,7-6,5)% e pós-TCP 4,4 (2,6-7,1)% (p=0,64).

Ratificando os resultados descritos acima, o VPM [média(DP)] reduziu de forma significativa de 10,8 (±1,0)fL no repouso para 10,4 (±1,0)fL após o TCP (p<0,01), já que houve variação absoluta maior do número de plaquetas maduras (de menores VPMs) do que de plaquetas jovens ou reticuladas (de maiores VPMs), que representam uma fração menor da população das plaquetas circulantes.

Tabela 4: Reatividade plaquetária no repouso e após teste cardiopulmonar no início do seguimento (visita 1)

	N	Repouso	Após TCP	p*
Multiplate ADP (AUC), mediana (IIQ)	79	32,0 (22,0 - 48,0)	38,0 (27,0 - 59,0)	<0,01**
Multiplate ASPI (AUC), mediana (IIQ)	79	17,0 (13,0 - 22,-0)	22,0 (17,0 - 28,0)	<0,01**
Plaquetas reticuladas (10 ³ /mm ³), mediana (IIQ)	77	9,5 (6,6 - 13,7)	10,2 (6,7 - 16,9)	<0,01**

TCP: teste cardiopulmonar; *valor de p para comparação do valor pós-TCP em relação ao valor de repouso; **teste de Wilcoxon.

- b. Comparar a reatividade plaquetária imediatamente antes e após TCP nos grupos controle e intervenção ao final do seguimento;

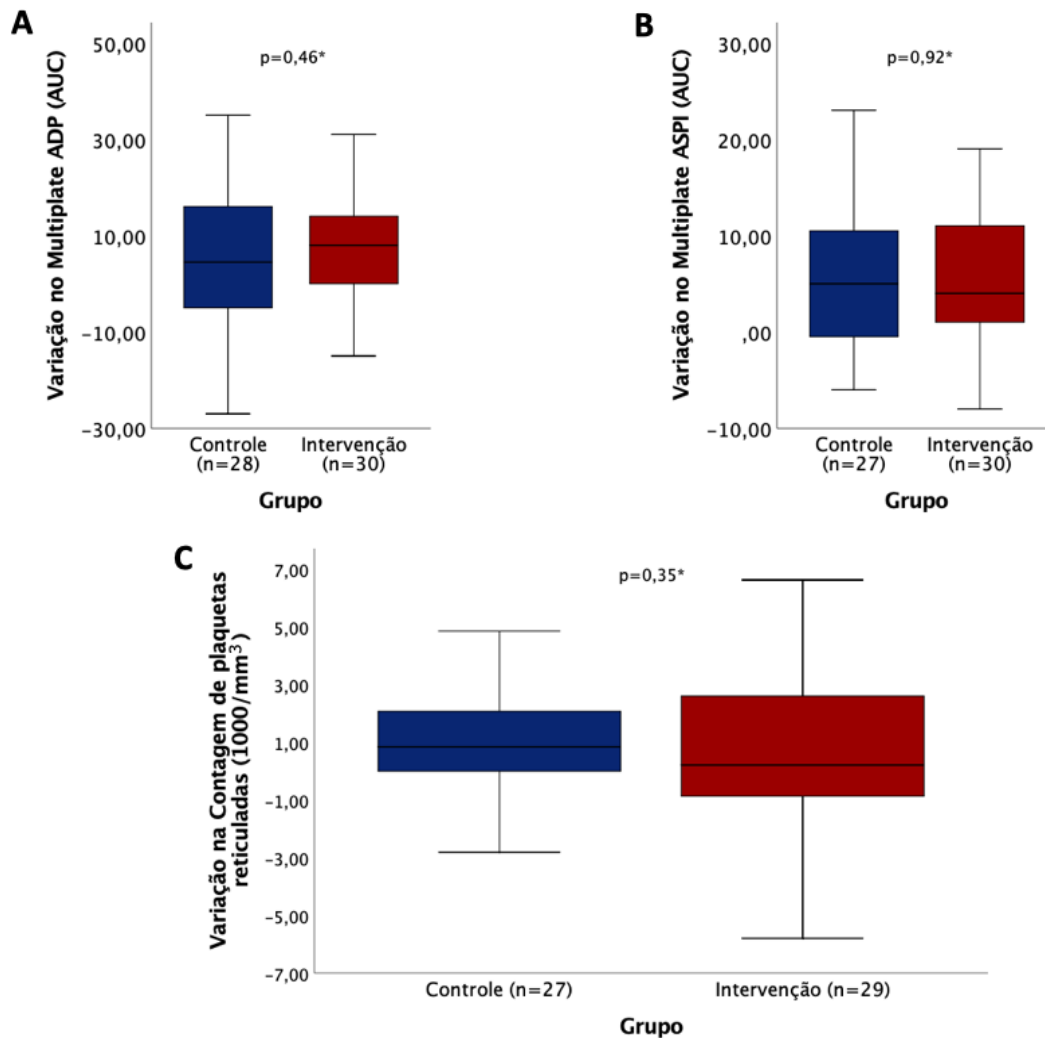
A variação da reatividade plaquetária frente ao exercício intenso tampouco se atenuou após treinamento físico: ao final do seguimento (visita 2) tanto no grupo controle quanto no grupo intervenção se observou aumento da reatividade plaquetária (Multiplate ADP e ASPI) após o TCP. A contagem de plaquetas reticuladas também aumentou após o TCP, embora a elevação no grupo intervenção tenha ocorrido de forma não significativa (tabela 5).

Quando se compara a variação ocorrida após o esforço no Multiplate ADP (figura 4A), no Multiplate ASPI (figura 4B) ou na contagem de plaquetas reticuladas (figura 4C) não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos controle e intervenção.

Tabela 5: Reatividade plaquetária no repouso e após teste cardiopulmonar máximo no final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção

		N	Controle	N	Intervenção
Multiplate ADP (AUC), mediana (IIQ)	Repouso	28	31,0 (24,0 - 60,0)	30	27,5 (23,0 - 39,8)
	Pós-TCP		35,0 (22,3 - 71,8)		40,5 (26,8 - 49,5)
	p*		0,07**		<0,01**
Multiplate ASPI (AUC), mediana (IIQ)	Repouso	27	17,0 (12,0 - 24,0)	30	20,0 (13,8 - 28,5)
	Pós-TCP		20,0 (15,0 - 24,0)		25,0 (19,0 - 31,0)
	p*		0,03**		<0,01**
Plaquetas Reticuladas (10 ³ /mm ³), mediana (IIQ)	Repouso	27	8,9 (6,9 - 12,4)	29	9,8 (7,7 - 15,3)
	Pós-TCP		10,9 (7,6 - 14,9)		11,7 (8,4 - 15,6)
	p*		<0,01**		0,18**

TCP: teste cardiopulmonar; *valor de p para comparação entre valor pós-TCP em relação ao repouso; **teste de Wilcoxon.



* Mann-Whitney.

Figura 4 - Comparação da variação da reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP (A) e Multiplate ASPI (B) e da contagem de plaquetas reticuladas (C) imediatamente após o teste cardiopulmonar em relação ao repouso ao final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção

Similarmente ao demonstrado no início do seguimento, na visita 2 os valores pós-TCP em relação ao repouso nos grupos controle e intervenção demonstraram: 1) elevação na contagem de plaquetas totais ($p < 0,01$, em ambos

os grupos); 2) variação não significativa da fração de plaquetas reticuladas ($p=0,73$ e $p=0,83$ para grupo controle e intervenção, respectivamente); 3) redução do VPM ($p<0,01$, em ambos os grupos).

- c. Avaliar o objetivo primário do estudo pelo Multiplate ADP e Multiplate ASPI;

Os grupos eram semelhantes entre si em relação à reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP e ASPI no início do seguimento. Não houve redução significativa da reatividade plaquetária na visita 2 em relação à visita 1 nos grupos controle e intervenção pelo Multiplate ADP e ASPI e, tampouco, demonstrou-se diferença significativa da reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP ou ASPI ao final do seguimento (visita 2) entre os grupos (tabelas 6 e 7).

Tabela 6: Reatividade plaquetária pelo Multiplate ADP nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2)

		Controle (n=31)	Intervenção (n=34)	p [*]
Multiplate ADP (AUC), mediana (IIQ)	Visita 1	37,0 (24,0-52,0)	28,0 (19,0-47,0)	0,61 ^a
	Visita 2	31,0 (24,0-60,0)	27,5 (23,0-39,8)	0,16 ^a
p ^{**}		0,70 ^{**}	0,34 ^{**}	

^{*}valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; ^{**}valor de p para comparação entre valor da visita 1 e visita 2; ^a Teste de Mann-Whitney; ^b Teste de Wilcoxon.

Tabela 7: Reatividade plaquetária pelo Multiplate ASPI nos grupos controle e intervenção no início e final do seguimento

		Intervenção		p*
		Controle (n=31)	(n=34)	
Multiplate ASPI (AUC), mediana (IIQ)	Visita 1	16,0 (11,0-20,0)	18,0 (15,0-28,5)	0,08 ^a
	Visita 2	17,0 (12,0-24,0)	20,0 (13,8-28,5)	0,28 ^a
	p**	0,35 ^b	0,51 ^b	

* valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; **valor de p para comparação entre valor da visita 1 e visita 2; ^a Teste de Mann-Whitney; ^b Teste de Wilcoxon.

- d. Avaliar o objetivo primário do estudo considerando somente pacientes do grupo intervenção que tenham obtido mais que 50% e mais que 75% da frequência no programa de treinamento supervisionado;

Em análise pré-especificada de subgrupo em que se avaliou somente os pacientes alocados no grupo intervenção que obtiveram frequência superior a 50% (19 ou mais sessões de treinamento) e a 75% (28 ou mais sessões de treinamento) os resultados foram semelhantes aos encontrados na população total (tabelas 8 e 9).

Tabela 8: Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no grupo controle e no grupo intervenção com aderência superior a 50% ao programa de treinamento no início e no final do seguimento:

		Controle (n=31)	Intervenção (n=28)	p*
VerifyNow P2Y ₁₂ (PRU), média (DP)	Visita 1	186,5 (±59,8)	168,6 (±64,8)	0,27 ^a
	Visita 2	172,8 (±68,9)	164,4 (±67,3)	0,64 ^a
	p**	0,26 ^b	0,64 ^b	

*valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; **valor de p para comparação entre valor obtido na visita 1 e visita 2; ^a Teste t de Student para amostras independentes; ^b Teste t para amostras pareadas.

Tabela 9: Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no grupo controle e no grupo intervenção com aderência superior a 75% ao programa de treinamento no início e no final do seguimento:

		Controle (n=31)	Intervenção (n=16)	p*
VerifyNow P2Y ₁₂ (PRU), média (DP)	Visita 1	186,5 (±59,8)	167,56 (±65,5)	0,33 ^a
	Visita 2	172,8 (±68,9)	147,8 (±68,9)	0,25 ^a
p**		0,26 ^b	0,15 ^b	

*valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; **valor de p para comparação entre valor obtido na visita 1 e visita 2; ^a Teste t de Student para amostras independentes; ^b Teste t de Student para amostras pareadas.

- e. Avaliar o VPM e índice de plaquetas reticuladas nos grupos intervenção e controle;

Não houve diferença significativa do VPM, contagem e fração de plaquetas reticuladas entre os grupos no início ou ao final do seguimento.

No grupo intervenção houve redução significativa na contagem de plaquetas reticuladas ao final do período de treinamento (visita 2) em relação ao basal (visita 1), sugerindo um possível benefício do treinamento nesses pacientes (tabela 10). Contudo, quando se avalia a variação nos índices de plaquetas reticuladas e no VPM ao longo do seguimento (visita 2 – visita 1) não houve diferença significativa entre os grupos controle e treinado (tabela 11).

Tabela 10: Índices de plaquetas reticuladas e volume plaquetário médio nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2)

		Controle (n=31)	Intervenção (n=32)	p*
CPR ($10^3/\text{mm}^3$), mediana (IIQ)	Visita 1	9,6 (6,3-14,1)	10,2 (6,3-13,5)	0,92 ^a
	Visita 2	8,9 (6,9-12,4)	9,8 (7,7-15,3)	0,42 ^a
	p**	0,53 ^b	0,045 ^b	
FPR (%), mediana (IIQ)	Visita 1	3,6 (2,4-6,7)	4,7 (2,8-6,6)	0,09 ^a
	Visita 2	3,7 (2,5-5,9)	4,6 (3,2-6,6)	0,06 ^a
	p**	0,32 ^b	0,78 ^b	
VPM (fL), média(DP)	Visita 1	10,6 ($\pm 0,9$)	10,8 ($\pm 0,9$)	0,23 ^c
	Visita 2	10,5 ($\pm 0,9$)	10,7 ($\pm 0,9$)	0,46 ^c
	p**	0,53 ^d	0,73 ^d	

*valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; **valor de p para comparação entre visita 1 e visita 2; ^a Mann-Whitney; ^b Teste de Wilcoxon; ^c Teste T de Student para amostras independentes; ^d Teste t de Student para amostras pareadas; CPR: Contagem de plaquetas reticuladas; FPR: Fração de plaquetas reticuladas; VPM: Volume plaquetário médio.

Tabela 11: Variação nos índices de plaquetas reticuladas e no volume plaquetário médio nos grupos controle e intervenção durante o seguimento

	Grupo Controle		Grupo Intervenção		p*
	N	$\Delta (V2 - V1)$	N	$\Delta (V2 - V1)$	
Plaquetas reticuladas ($10^3/\text{mm}^3$), média(DP)	31	+0,2 ($\pm 2,4$)	32	+1,0 ($\pm 3,8$)	0,31 ^a
Fração de plaquetas reticuladas (%), média(DP)	31	+0,1 ($\pm 1,2$)	32	+0,03 ($\pm 1,1$)	0,71 ^a
VPM (fL), mediana (IIQ)	31	-0,1 (-0,2 - +0,2)	32	-0,05 (-0,4 - +0,1)	0,61 ^b

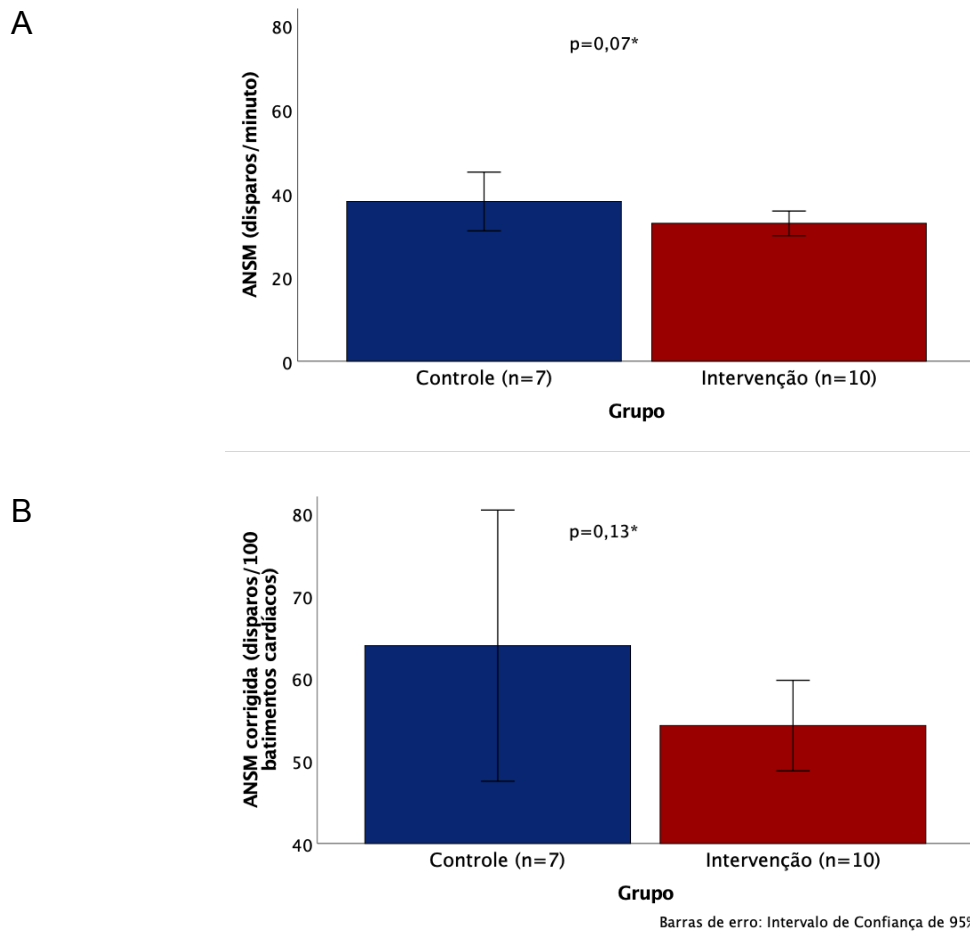
*valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; ^a Teste t de Student para amostras independentes; ^b Mann-Whitney; $\Delta (V2 - V1)$: diferença do valor na visita 2 em relação ao valor na visita 1; VPM: volume plaquetário médio.

4.6 Outros objetivos secundários

4.6.1 Correlação entre reatividade plaquetária, avaliada pelos métodos Multiplate ADP, Multiplate ASPI e VerifyNow P2Y₁₂, com o nível de atividade nervosa simpática muscular, no global da população e nos grupos treinado e não treinado

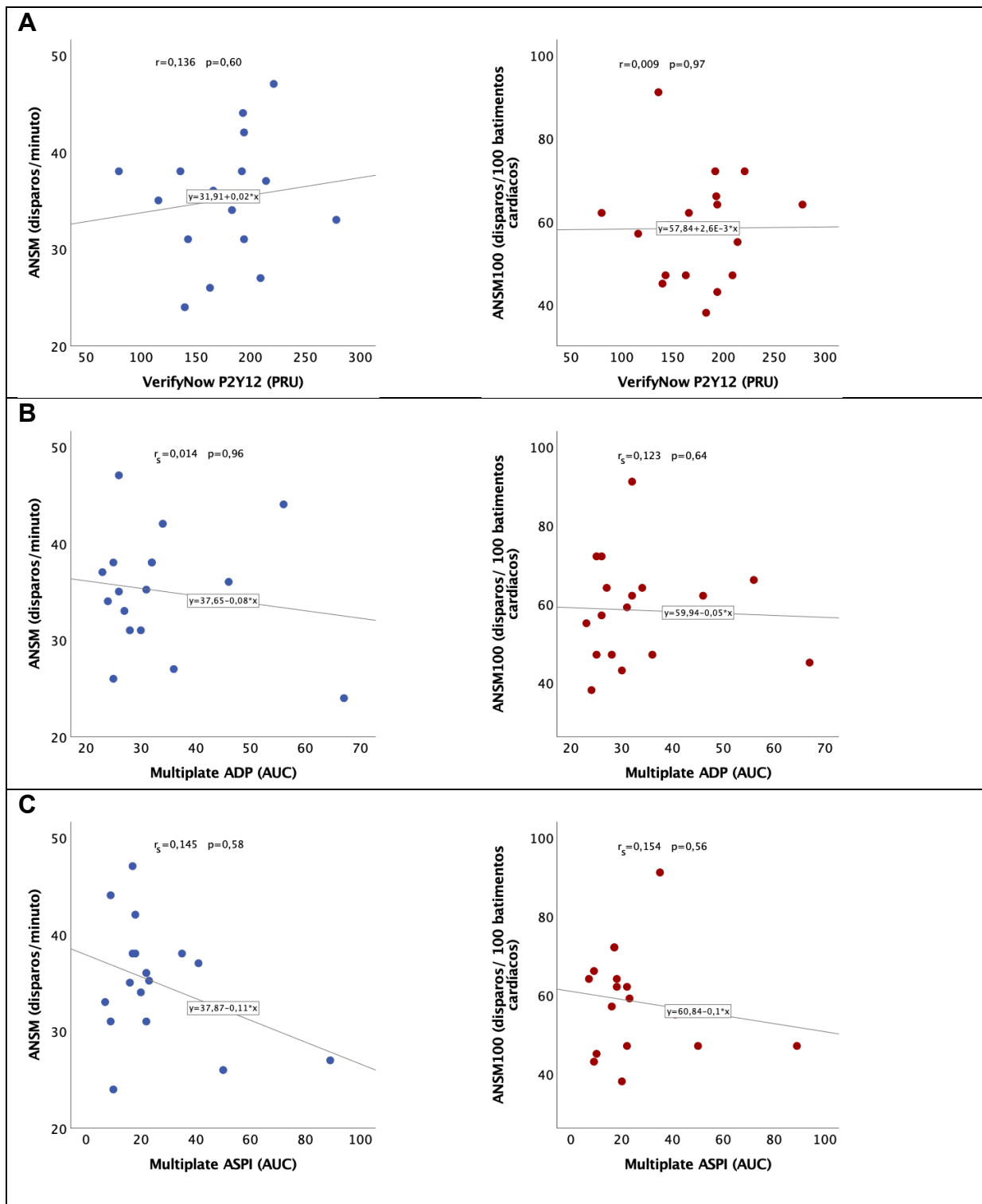
Entre os 30 últimos paciente incluídos no estudo e considerados para análise da ANSM, vinte e dois concluíram o seguimento e foram submetidos ao exame na visita 2, após, pelo menos, 24h da realização do TCP. A microneurografia para obtenção do ANSM foi realizada em 135 ($\pm 9,5$) dias após o IAM. Não foi possível a conclusão da ANSM em 3 pacientes por desconforto inerente à técnica de microneurografia e em 2 pacientes devido ao sinal nervoso inadequado. Com isso, foram obtidas 17 medidas válidas de ANSM, sendo 7 no grupo controle e 10 no grupo intervenção.

No global da população, a ANSM aferida foi de 35,1 ($\pm 6,2$) disparos/minuto, ou, quando corrigida pela frequência cardíaca (ANSM100), 58,3 ($\pm 13,3$) disparos/100 batimentos cardíacos. Não houve diferença estatisticamente significativa da ANSM (figura 5A) ou da ANSM100 (figura 5B) entre os pacientes submetidos ao treinamento em relação ao grupo controle.



*Mann-Whitney. ANSM: atividade nervosa simpática muscular.

Figura 5: Atividade nervosa simpática muscular nos grupos controle e intervenção



ANSM: atividade nervosa simpática muscular; ANSM100: ANSM corrigida pela frequência cardíaca.

Figura 6: Correlação entre atividade nervosa simpática muscular e reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ (A), Multiplate ADP (B) e Multiplate ASPI (C) no total da população (n=17)

Não houve correlação significativa entre o nível de ANSM ou ANSM100 e a reatividade plaquetária aferidas pelo VerifyNow P2Y₁₂, Multiplate ADP ou Multiplate ASPI no global da população (figura 6). Quando analisados os grupos controle e intervenção também não houve correlação entre a ANSM e reatividade plaquetária. Nos grupos controle e intervenção, respectivamente, os coeficientes de correlação [Pearson (r) ou Spearman (r_s)] para ANSM100 em relação a cada um dos métodos avaliados de reatividade plaquetária foram os seguintes: a) VerifyNow P2Y₁₂: r= -0,017 (p=0,97) e r= -0,055 (p=0,88); b) Multiplate ADP: r_s= -0,009 (p=0,85) e r= 0,230 (p=0,52); e c) Multiplate ASPI foi r= 0,574 (p=0,18) e r_s= 0,164 (p=0,73).

4.6.2 Comparação de contagem de plaquetas, perfil lipídico, função do HDL-colesterol, perfil glicêmico, PCR-us e BNP nos grupos treinado e não treinado

Conforme demonstrado na tabela 12, não houve diferença na variação observada durante do seguimento (valor da visita 2 em relação ao valor da visita 1) nos dois grupos para os seguintes parâmetros: contagem de plaquetas, valores de LDL-C, HDL-C, triglicérides, transferência de lípidos para HDL, glicemia de jejum, hemoglobina glicada, PCR-us e BNP.

Tabela 12: Variação de contagem de plaquetas, perfil lipídico e glicêmico, marcador inflamatório e de sobrecarga ventricular durante o seguimento nos grupos controle e intervenção

	Grupo Controle		Grupo Intervenção		p*
	N	Δ (V2 - V1)	N	Δ (V2 - V1)	
Plaquetas ($10^3/\text{mm}^3$), mediana (IIQ)	31	+6,0 (-17,0 - +27,0)	34	+15,5 (+3,8 - +27,3)	0,19 ^a
LDL-C (mg/dL), média (DP)	30	+13,4 (\pm 32,2)	34	+4,5 (\pm 22,8)	0,20 ^b
HDL-C (mg/dL), média (DP)	29	+2,0 (\pm 6,6)	34	+3,1 (\pm 5,6)	0,47 ^b
Triglicérides (mg/dL), mediana (IIQ)	31	0 (-18,0 - +64,0)	31	-6,0 (-21,0 - +29,3)	0,44 ^a
Transferência de CE para HDL (%), média (DP)	24	+0,33 (\pm 1,3)	26	+0,27 (\pm 1,1)	0,88 ^b
Transferência de CL para HDL (%), média (DP)	24	+0,47 (\pm 1,9)	26	+0,42 (\pm 1,4)	0,92 ^b
Glicemia de jejum (mg/dL), mediana (IIQ)	29	-5,0 (-8,0 - +6,5)	34	+1,5 (-6,0 - +11,5)	0,15 ^a
Hemoglobina glicada (%), mediana (IIQ)	31	0 (-0,4 - +0,3)	34	+0,1 (-0,2 - +0,3)	0,48 ^a
PCR-us (mg/L), mediana (IIQ)	30	0 (-1,6 - +1,0)	34	-0,3 (-1,9 - +0,2)	0,21 ^a
BNP (pg/ml), mediana (IIQ)	31	-22(-62 - -8)	34	-23,5 (-56,3 - -12,3)	0,97 ^a

*valor de p para comparação entre grupo controle e intervenção; Δ (V2 - V1): diferença do valor obtido na visita 2 em relação ao valor na visita 1; VPM: volume plaquetário médio; LDL-C: lipoproteína de baixa densidade ligada ao colesterol; HDL-C: lipoproteína de alta densidade ligada ao colesterol; CE: colesterol esterificado; CL: colesterol livre; PCR-us: proteína C-reativa ultrasensível; BNP: Peptídeo natriurético tipo B; ^a Mann-Whitney; ^b Teste t de Student.

4.6.3 Objetivo primário do estudo em subgrupos pré-especificados

Foram realizadas análises pré-especificadas considerando-se os seguintes subgrupos (de acordo com dados basais e do evento-índice): sexo masculino ou feminino, IAM com ou sem supradesnível do segmento ST, hipertensão arterial e ausência de hipertensão arterial, LDL-C <100mg/dL e \geq 100mg/dL, idade \geq 65 ou < 65 anos, IMC <30 ou \geq 30kg/m², TFG (MDRD)(70) <

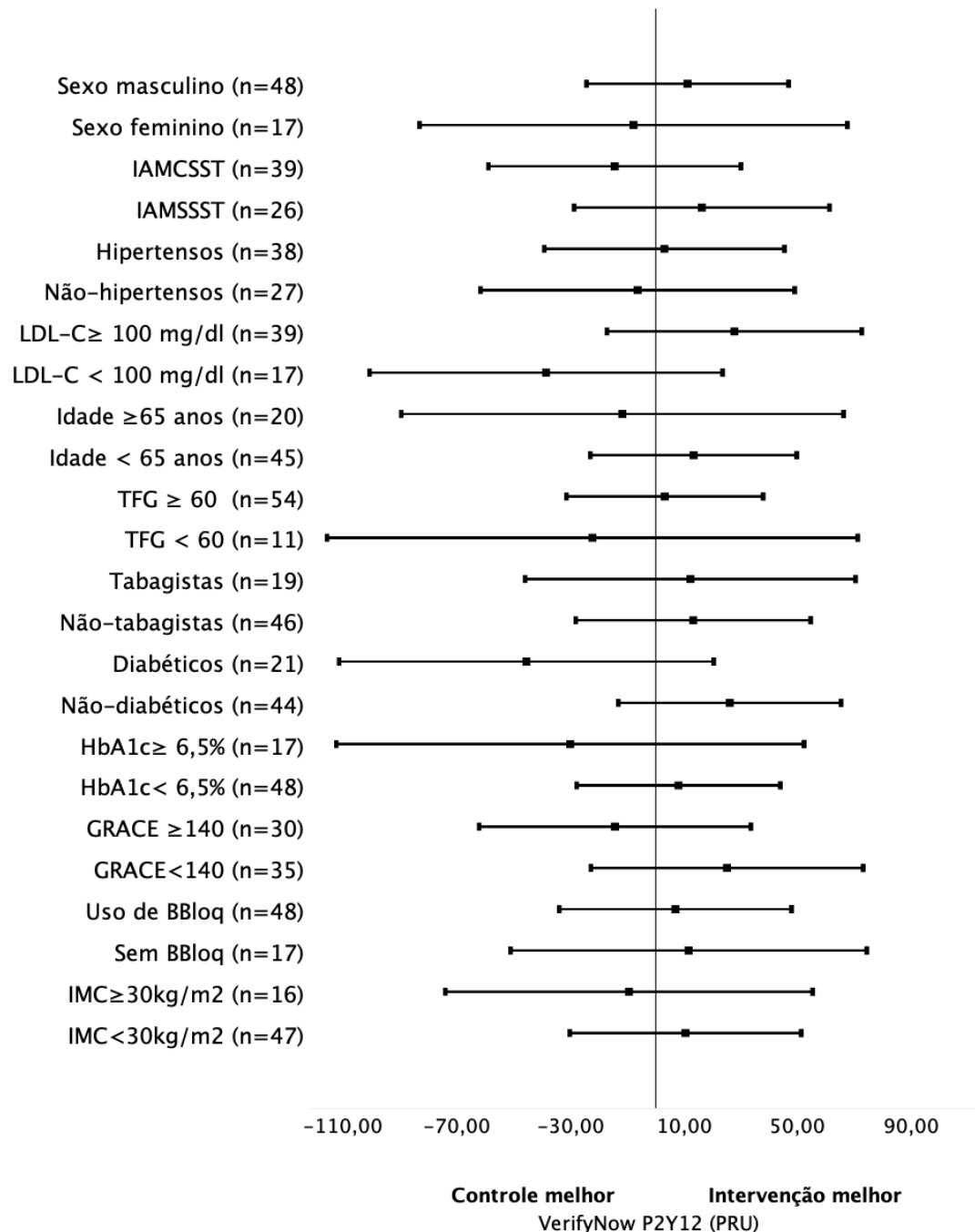
60ml/min/1,73m² ou ≥ 60ml/min/m², tabagismo atual ou não-tabagista, diabetes mellitus (presença ou não), HbA1c <6,5% ou ≥ 6,5%, escore de risco GRACE(71) ≥140 ou <140 e uso ou não de betabloqueador.

O resultado do estudo foi consistente entre os subgrupos analisados. Conforme demonstrado na tabela 13, não se demonstrou interação significativa entre a meta primária do estudo e qualquer dos subgrupos, apesar de resultado limítrofe para presença ou não de diabetes mellitus. Também, não houve diferença do valor final da reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no final do seguimento (visita 2) entre os grupos controle e intervenção em cada um dos subgrupos (figura 7).

Tabela 13: Reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ no final do seguimento (visita 2) nos grupos controle e intervenção nos diferentes subgrupos

Subgrupo	VerifyNow P2Y ₁₂ (PRU), mediana (IIQ)		p*	p para interação**
	Grupo Controle	Grupo Intervenção		
Sexo masculino (n=48)	174,0 (136,0 - 205,0)	160,0 (91,0 - 209,0)	0,60 ^a	0,60 ^b
Sexo feminino (n=17)	234,5 (122,5 - 279,8)	226,0 (185,0 - 233,5)	0,48 ^a	
IAMCSST (n=39)	156,5 (90,8 - 189,8)	169,0 (90,0 - 209,0)	0,47 ^a	0,35 ^b
IAMSSST (n=26)	221,0 (182,0 - 239,0)	204,0 (160,0 - 226,0)	0,38 ^a	
Hipertensos (n=38)	193,0 (146,5 - 229,5)	209,0 (127,0 - 233,0)	0,89 ^a	0,78 ^b
Não-hipertensos (n=27)	149,0 (84,8 - 223,3)	163,0 (98,0 - 208,5)	0,98 ^a	
LDL-C ≥ 100 mg/dl (n=39)	187,5 (110,0 - 230,0)	151,0 (90,0 - 204,0)	0,22 ^a	0,10 ^b
LDL-C < 100 mg/dl (n=17)	174,0 (99,0 - 221,0)	212,0 (185,0 - 230,5)	0,30 ^a	
Idade ≥ 65 anos (n=20)	192,0 (69,5 - 234,0)	163,0 (115,0 - 228,0)	0,88 ^a	0,50 ^b
Idade < 65 anos (n=45)	182,5 (139,5 - 218,8)	176,0 (139,0 - 214,0)	0,79 ^a	
TFG ≥ 60 (n=54)	178,0 (109,0 - 212,5)	164,5 (109,3 - 209,5)	0,84 ^a	0,60 ^b
TFG < 60 (n=11)	229,0 (155,0 - 292,0)	228,5 (210,5 - 269,0)	0,79 ^a	
Tabagistas (n=19)	206,0 (143,5 - 255,5)	208,0 (163,0 - 227,5)	0,70 ^a	0,98 ^b
Não-tabagistas (n=46)	183,0 (117,5 - 218,0)	151,0 (91,0 - 209,0)	0,57 ^a	
Diabéticos (n=21)	193,0 (91,5 - 222,5)	220,5 (164,0 - 235,5)	0,21 ^a	0,05 ^b
Não-diabéticos (n=44)	182,5 (139,0 - 229,3)	164,5 (91,5 - 209,0)	0,27 ^a	
HbA1c ≥ 6,5% (n=17)	215,0 (138,0 - 239,0)	226,0 (172,0 - 258,5)	0,59 ^a	0,32 ^b
HbA1c < 6,5% (n=48)	178,0 (109,0 - 202,5)	164,5 (97,8 - 209,0)	0,78 ^a	
GRACE ≥ 140 (n=30)	192,0 (117,5 - 229,5)	209,0 (148,5 - 220,0)	0,81 ^a	0,24 ^b
GRACE < 140 (n=35)	182,5 (128,5 - 223,3)	160,0 (85,0 - 221,5)	0,40 ^a	
Uso de BBloq (n=48)	182,0 (139,0 - 225,5)	204,0 (115,0 - 215,0)	0,93 ^a	0,90 ^b
Sem BBloq (n=17)	187,5 (87,0 - 229,3)	146,0 (116,0 - 176,0)	0,54 ^a	
IMC ≥ 30 kg/m ² (n=16)	174,0 (99,0 - 243,0)	209,0 (155,5 - 227,0)	1,0 ^a	0,61 ^b
IMC < 30 kg/m ² (n=47)	183,0 (136,0 - 215,0)	164,5 (90,5 - 212,8)	0,72 ^a	

*Valor de p para comparação da reatividade plaquetária no final do seguimento no grupo controle e intervenção nos subgrupos analisados; ^aMann-Whitney; ^bTeste de regressão linear; PRU: P2Y₁₂ reactions units; IAMCSST: Infarto agudo do miocárdio (IAM) com supradesnível do segmento ST; IAMSSST: IAM sem supradesnível do segmento ST; LDL-C: lipoproteína de baixa densidade ligada ao colesterol; TFG: taxa de filtração glomerular pela fórmula MDRD(70) em ml/min/1,73m²; HbA1C: hemoglobina glicada; BBloq: betabloqueador; IMC: índice de massa corpórea.



PRU: $P2Y_{12}$ reactions units; IAMCSST: Infarto agudo do miocárdio (IAM) com supradesnível do segmento ST; IAMSSST: IAM sem supradesnível do segmento ST; LDL-C: lipoproteína de baixa densidade ligada ao colesterol; TFG: taxa de filtração glomerular pela fórmula MDRD(70) em ml/min/1,73m²; HbA1C: hemoglobina glicada; BBloq: betabloqueador; IMC: índice de massa corpórea.

Figura 7: Análise de subgrupos: média (IC 95%) da diferença do VerifyNow P2Y₁₂(PRU) no final do seguimento (visita 2) entre os grupos controle e intervenção em cada um dos subgrupos

4.7 Análises post hoc

4.7.1 Taxa de resistência à terapia antiplaquetária nos grupos controle e intervenção

Realizou-se análise post hoc comparando-se as taxas de resistência ao antagonista do receptor P2Y₁₂ (definido como VerifyNow P2Y₁₂ ≥ 208 PRU ou Multiplate ADP ≥ 46 AUC) (69) e à aspirina (definido como Multiplate ASPI > 40 AUC).(78) No início do seguimento (visita 1) não houve diferença entre os grupos controle e intervenção. Ao final do seguimento, a taxa de resistência avaliada pelo Multiplate ADP foi significativamente menor no grupo intervenção em relação ao grupo controle. Pelo VerifyNow P2Y₁₂ e Multiplate ASPI, contudo, não houve diferenças significativas entre os grupos. Comparando-se a taxa de resistência na visita 1 com a taxa na visita 2 também não se demonstrou diferença nos grupos (tabela 14).

Tabela 14: Taxa de resistência a terapia antiplaquetária nos grupos controle e intervenção no início (visita 1) e final do seguimento (visita 2)

		Controle	Intervenção	p [*]
VerifyNow P2Y ₁₂ ≥208 PRU, n (%)	Visita 1	12 (35,3%)	11 (23,4%)	0,24 ^a
	Visita 2	10 (32,3%)	14 (41,2%)	0,46 ^a
	p ^{**}	0,69 ^b	0,07 ^b	
Multiplate ADP ≥ 46 AUC, n (%)	Visita 1	11 (32,4%)	13 (26,5%)	0,57 ^a
	Visita 2	12 (38,7%)	3 (8,8%)	0,004 ^a
	p ^{**}	1,0 ^b	0,07 ^b	
Multiplate ASPI ≥40 AUC, n (%)	Visita 1	2 (5,9%)	7 (14,3%)	0,30 ^c
	Visita 2	4 (12,9%)	7 (20,6%)	0,41 ^a
	p ^{**}	0,63 ^b	1,0 ^b	

*valor de p para comparação entre os grupos controle e intervenção; **valor de p para comparação entre o valor da visita 1 e da visita 2; ^a Qui-quadrado; ^b McNemar; ^c Teste exato de Fisher.

4.7.2 Reatividade plaquetária e consumo máximo de oxigênio

Observou-se correlações inversas e significativas entre a reatividade plaquetária avaliada pelo VerifyNow P2Y₁₂ e nível de condicionamento físico medido pelo VO₂ máximo obtido no TCP no início (visita 1) e ao final do seguimento (visita 2) na população total estudada (figuras 8A e 8B).

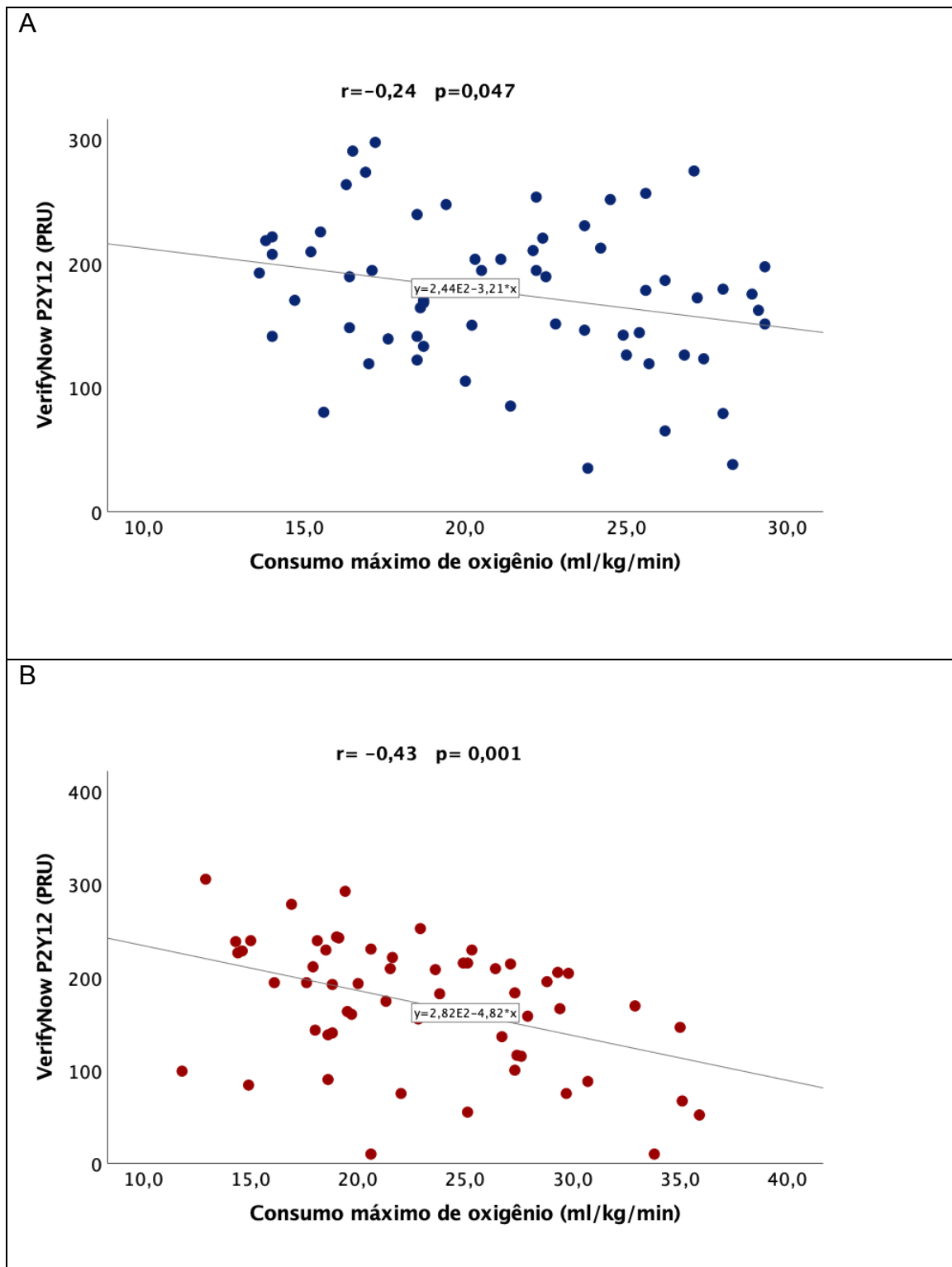


Figura 8: Correlação entre reatividade plaquetária pelo VerifyNow P2Y₁₂ e consumo máximo de oxigênio no teste cardiopulmonar realizado: A) no início do seguimento (n=72) e B) no final do seguimento (n=58)

Quando os demais testes de reatividade plaquetária foram analisados, no entanto, não se demonstrou correlação significativa com VO₂ máximo em ambas as visitas realizadas: a) Multiplate ADP na visita 1 $r_s = 0,11$ ($p=0,94$) e na visita 2 $r_s = -0,13$ ($p=0,32$); b) Multiplate ASPI na visita 1 $r_s = 0,03$ ($p=0,81$) e na visita 2 $r_s = 0,18$ ($p=0,17$).

Entre os pacientes resistentes à terapia com antagonista do P2Y₁₂, ou seja, com valores de VerifyNow P2Y₁₂ ≥ 208 PRU, a capacidade cardiorrespiratória medida pelo VO₂ máximo foi numericamente menor em relação aos pacientes com resposta adequada ao antagonista P2Y₁₂, tanto no início ($p=0,055$) quanto no final ($p=0,03$) do seguimento (figuras 8A e 8B).

Diferentemente do demonstrado com VerifyNow P2Y₁₂, porém, não houve diferença no VO₂ máximo entre pacientes com Multiplate ADP < 46 ou ≥ 46 AUC no início ($p=0,69$) ou no final do seguimento ($p=0,46$). Além disso, também não houve diferença entre pacientes com Multiplate ASPI < 40 ou ≥ 40 AUC tanto no início ($p=0,47$) quanto no final do seguimento ($p=0,68$).

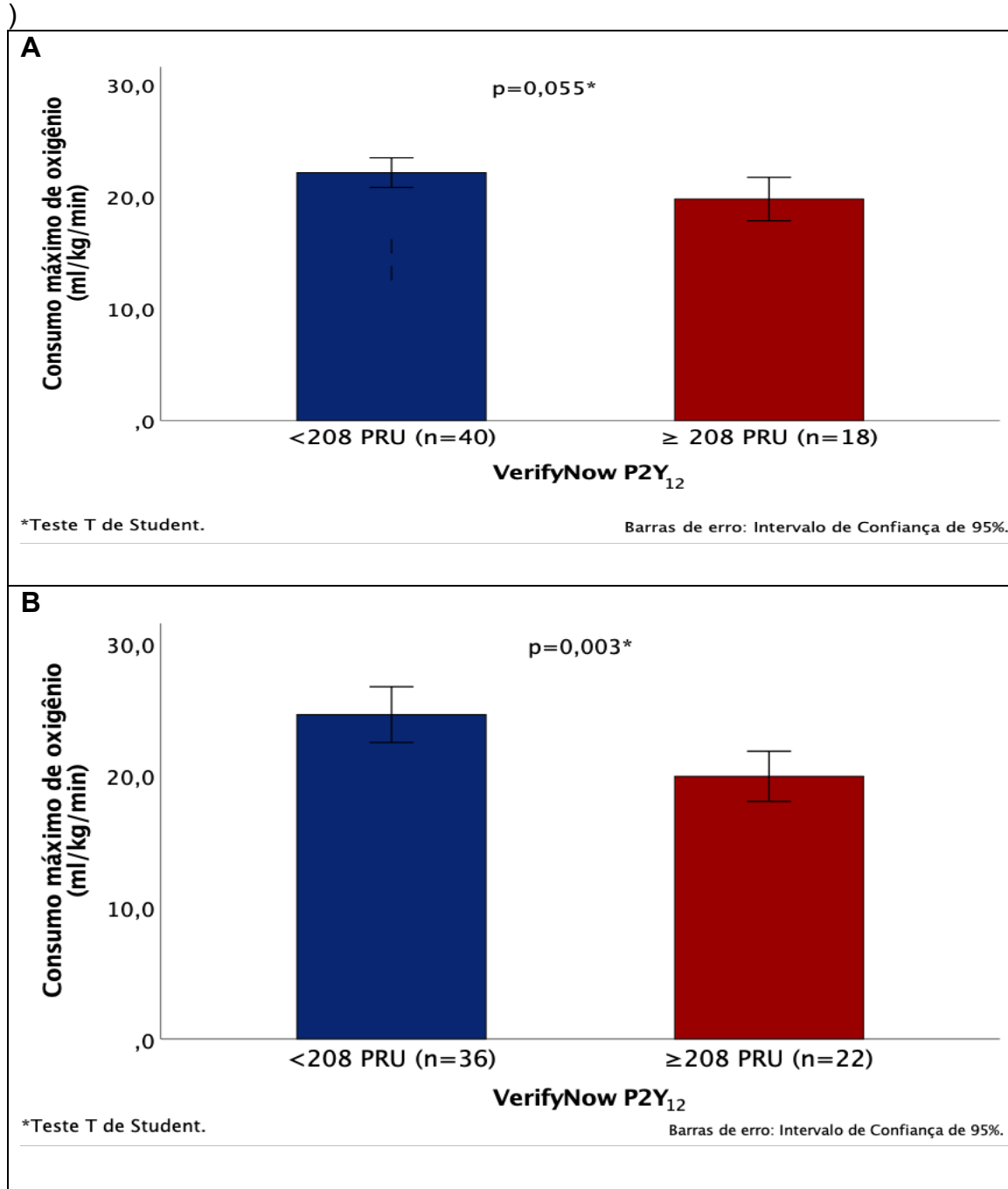


Figura 9: Consumo máximo de oxigênio no teste cardiopulmonar no início de seguimento (A) e no final do seguimento (B) em pacientes resistentes e não resistentes à ação do antagonista P2Y₁₂ (VerifyNow P2Y₁₂ \geq ou < 208PRUs

Em análise de regressão logística binária (variável dependente VerifyNow P2Y₁₂ ≥208 no final do seguimento e variáveis independentes sexo, idade, diabetes, valores de VO₂ máximo e de hematócrito na visita final), demonstrou-se que apenas o valor do hematócrito e o VO₂ se correlacionaram de forma independente à resistência ao antagonista P2Y₁₂ (tabela 15).

Tabela 15: Variáveis que se correlacionaram de forma independente à resistência à terapia com antagonista P2Y₁₂ no final do seguimento (visita 2)

	VerifyNow P2Y ₁₂		p*	OR (IC 95%)	p-ajustado**
	<208 PRU	≥208 PRU			
Hematócrito (%), média (dp)	43,8 (±2,8)	40,8 (±2,8)	0,003	0,79 (0,63 – 0,99)	0,044
VO ₂ máximo (ml/kg/min), média (dp)	24,6 (±6,3)	20,0 (±4,3)	<0,001	0,88 (0,79 - 0,99)	0,028

*Teste T de Student para amostras independentes; **Regressão logística binária (variável dependente: VerifyNow P2Y₁₂ ≥ 208 PRU; variáveis independentes: sexo, idade, diabetes, hematócrito e VO₂ máximo no final do seguimento). VO₂ máximo: consumo máximo de oxigênio.

5 Discussão

5.1 Efeito do treinamento físico sobre a reatividade plaquetária (objetivo primário)

O presente estudo demonstrou que em pacientes com IAM recente em uso de DAP a realização de reabilitação cardiovascular baseada em treinamento físico supervisionado com intensidade moderada por 14 semanas não foi suficiente para reduzir a reatividade plaquetária, tanto pela via do ADP com VerifyNow P2Y₁₂ (meta primária do estudo) ou Multiplate ADP, quanto pela via do tromboxane com Multiplate ASPI.

Apesar de alguns resultados conflitantes, muita vezes variando de acordo com a metodologia aplicada, a maior evidência presente na literatura até o momento sugere haver redução da reatividade plaquetária com o treinamento físico.(43, 57, 58, 61, 62) O nosso estudo, contudo, não reproduziu este achado, o que pode ser explicado por alguns pontos divergentes de estudos prévios como população estudada (com ou sem doença cardiovascular, coronariopatia aguda ou crônica), tempo entre a intervenção e o evento isquêmico, metodologias utilizadas e, provavelmente mais importante, uso ou não de terapia antiplaquetária concomitante.

A ativação plaquetária associada à SCA pode se manter em níveis mais elevados mesmo em fases mais tardias após o evento isquêmico.(79) Estudos que demonstraram redução da reatividade plaquetária com treinamento físico incluíram pacientes saudáveis ou apenas com fatores de risco cardiovasculares.(43, 57, 58, 61, 62) Considerando-se tal fato, pode-se especular que a presença de doença cardiovascular por si só, particularmente

após evento associado à trombose e isquemia recente, poderia atenuar o efeito benéfico do treinamento físico sobre a função plaquetária em decorrência de um nível basal de ativação plaquetária mais elevado encontrado nesses pacientes.

Assim como na nossa casuística, o estudo de Arosio e col., que avaliou pacientes com DAOP sintomática, não demonstrou redução da reatividade plaquetária basal após período de treinamento(64) corroborando a hipótese de que em pacientes com doença cardiovascular estabelecida o treinamento físico não se correlaciona à redução da reatividade plaquetária. Além disso, tanto pacientes com DAOP quanto pacientes pós-SCA podem, pela própria limitação periférica e/ou cardiorrespiratória associada às suas comorbidades, não terem atingido melhora importante do condicionamento físico, comprometendo, deste modo, o efeito que seria esperado sobre a função das plaquetas. Apesar do incremento do VO₂ máximo no grupo submetido ao treinamento no nosso estudo ter sido similar ao encontrado em outra casuística com pacientes com DAC submetidos a períodos e intensidades de treinamento semelhantes ao nosso,(80) foi numericamente inferior ao observado em estudos com pacientes sem doença cardiovascular nos quais se demonstrou redução da reatividade plaquetária com treinamento físico de moderada intensidade.(43, 57)

Outro importante fator que pode ter impactado o resultado obtido na nossa casuística foi o uso concomitante da terapia antiplaquetária. O uso de antagonista do receptor P2Y₁₂ promove uma importante inibição da reatividade plaquetária pela via do ADP.(81) Deste modo, é possível que o treinamento físico não tenha sido suficiente para sobrepujar o efeito antiagregante nos pacientes já em uso de DAP.

Além disso, há uma grande variabilidade interindividual da resposta à terapia antiplaquetária, particularmente em relação ao clopidogrel,(82) utilizado por 61 dos 65 pacientes incluídos na análise da meta principal do estudo. Essa variabilidade na resposta ocorre devido a características genéticas (p.ex. polimorfismos relacionados ao gene do citocromo P450 2C19 que interferem na metabolização do medicamento)(83, 84) e, principalmente, pela interação com outras medicações, como protetores gástricos inibidores da bomba de prótons utilizados por cerca de 30% dos pacientes.(74, 85)

Saliente-se que as metodologias utilizadas na avaliação da reatividade plaquetária no presente foram testes *point of care* que utilizam sangue total, portanto, mais fisiológicas do que as utilizadas nos estudos prévios, com plasma rico em plaquetas.(43, 57, 58, 61, 62) Essas metodologias foram escolhidas, pois, além de serem validadas, reproduzíveis e recomendadas em consenso atual de especialistas,(69) traduzem maior relevância clínica, uma vez que se correlacionam a desfechos como trombose de stent, sangramento e mortalidade. (67)

O fato de não se ter demonstrado influência do treinamento físico sobre a reatividade plaquetária nessa população de alto risco, não exclui a possibilidade de que outras prescrições de treinamento com diferentes volumes e intensidades de exercício, como treino intervalado de alta intensidade (HIIT – *high-intensity interval training*), associado a maior incremento de VO₂ máximo em pacientes com DAC quando comparado ao treinamento de moderado intensidade,(80, 86), não possam apresentar efeito significativo sobre a reatividade plaquetária, visto demonstração de correlação inversa significativa, apesar de modesta, entre VO₂ máximo e VerifyNow P2Y₁₂, menores valores de

VO₂ máximo entre pacientes resistentes aos antagonistas do P2Y₁₂ (≥ 208 PRU), além de menor taxa resistência pelo Multiplate ADP (≥ 46 AUC) no grupo submetido ao treinamento. Esses achados, no entanto, devem ser interpretados com muita cautela, uma vez que as análises não foram pré-especificadas e por não ter havido consistência dos resultados nos diferentes métodos de agregometria analisados.

5.2 Efeito da atividade física aguda sobre a reatividade plaquetária (objetivo secundário)

A realização do TCP máximo, mesmo em pacientes utilizando DAP, levou a aumento significativo da reatividade plaquetária por ambas as vias de ativação plaquetária estudadas (do ADP e do tromboxane), tanto no início do seguimento quanto após treinamento físico, indicando-se que, mesmo quando condicionados fisicamente, pacientes pós-IAM mantêm aumento da reatividade plaquetária frente a exercício de alta intensidade.

No final do seguimento, o aumento da reatividade plaquetária induzida pelo esforço intenso foi numericamente maior, apesar de não atingir significância estatística, no grupo submetido a treinamento físico. Este fato pode estar associado a maior intensidade de exercício desempenhada no TCP, com conseqüente maior ativação plaquetária, ao final do seguimento entre os pacientes treinados.

O efeito do exercício extenuante sobre as plaquetas já havia sido documentado em indivíduos saudáveis(27, 29, 41, 43, 44) e em pacientes com

DAC estável, (45-47) sendo que, entre pacientes com DAC, mesmo exercícios menos intensos se associaram a aumento da reatividade plaquetária.(48) Diferentemente do demonstrado previamente,(43) contudo, na nossa casuística os pacientes mantiveram a elevação da reatividade plaquetária frente ao exercício agudo mesmo após período de treinamento físico.

A evidência prévia sobre uso de terapias antitrombóticas para se inibir o aumento da reatividade plaquetária ao exercício agudo é escassa e conflitante. Do que seja do nosso conhecimento apenas dois estudos avaliaram o efeito do exercício físico agudo sobre a reatividade plaquetária em pacientes em uso de terapia combinada com AAS e um inibidor do receptor P2Y₁₂.(47, 55) No ensaio de Kitai e col não houve aumento da reatividade plaquetária após esforço intenso nos pacientes em uso de AAS e ticlopidina. Por outro lado, o uso de DAP (com AAS associado a clopidogrel ou prasugrel) não foi capaz de inibir a elevação da reatividade plaquetária ao exercício agudo no estudo de Brunner e col.(47). Na nossa casuística, assim como demonstrado por Brunner e col. houve aumento da reatividade plaquetária após exercício físico agudo nos paciente em uso de DAP.

O presente estudo demonstrou, pela primeira vez, o aumento da contagem de plaquetas reticuladas na circulação após esforço físico. Esse aumento foi proporcional à elevação de plaquetas totais, pois a fração de plaquetas reticuladas se manteve estável, sugerindo que a população de plaquetas armazenadas no baço e liberadas após estímulo adrenérgico na circulação tenha composição semelhante (entre jovens ou maduras) à população de plaquetas circulantes. Esse achado corrobora a publicação de Chamberlain e col., na qual se verificou que a estimulação adrenérgica do baço pelo exercício

não aumentou a concentração de marcadores indiretos de plaquetas mais jovens na circulação.(33) No nosso estudo esse mecanismo foi demonstrado de maneira mais direta e automatizada pela comparação da presença de RNA plaquetário, presente apenas nas plaquetas jovens ou reticuladas, na amostra coletada imediatamente antes e após o TCP. Similarmente aos resultados obtidos para a reatividade plaquetária, o aumento da contagem de plaquetas reticuladas ocorreu a despeito do uso de antiagregantes e mesmo após período de treinamento físico no grupo selecionado para intervenção.

A maioria dos pacientes da nossa casuística foram tratados com clopidogrel, de modo que não se pode excluir que a utilização de terapias antiplaquetárias mais potentes como ticagrelor ou prasugrel sejam capazes de atenuar de forma significativa o aumento da reatividade plaquetária em resposta ao esforço. Contudo, com a demonstração de que esse aumento é decorrente, pelo menos em parte, da maior liberação de plaquetas reticuladas na circulação, é possível que mesmo a antiagregação plaquetária mais potente não seja suficiente para inibir a elevação da reatividade plaquetária ao esforço, já que, quando há uma maior renovação plaquetária, há, conseqüentemente, uma maior proporção de plaquetas circulantes ainda não inibidas pelos antiplaquetários.

Uma vez que tanto a reatividade plaquetária(65, 66) quanto a contagem de plaquetas reticuladas(36, 37) se correlacionam com recorrência de eventos cardiovasculares, esses achados são de considerável relevância clínica, sugerindo-se que pacientes pós-IAM, principalmente quando de muito alto risco para complicações trombóticas como diabéticos, portadores de doença aterosclerótica difusa, submetidos a angioplastias complexas (com implante de stents longos, menos calibrosos e/ou em bifurcações), ou ainda pacientes

idosos, podem estar sujeitos a maior risco de complicações após realização de exercício físico intenso, mesmo quando tratados adequadamente (100% dos pacientes mantiveram uso DAP e de estatina, mais de 80% dos pacientes estavam em uso de inibidores do sistema renina-angiotensina e mais de 90% em uso de betabloqueadores ao final do seguimento).

5.3 Outros objetivos secundários

Não se demonstrou correlação significativa entre ANSM e reatividade plaquetária. No entanto, o grupo intervenção apresentou menor valor numérico (sem haver diferença estatisticamente significativa) de ANSM em relação ao grupo controle, sugerindo-se benefício do treinamento físico. A modulação da atividade simpática pelo treinamento físico já havia sido demonstrada em pacientes hipertensos e pós-IAM.(22, 87) O número limitado de pacientes com resultados válidos de microneurografia na nossa casuística, porém, pode ter influenciado os nossos achados.

5.4 Limitações

Nosso estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, utilizamos o desenho aberto. Apesar da intervenção aplicada (treinamento físico) impossibilitar cegamento ao participante da pesquisa, o investigador também teve conhecimento do grupo de alocação dos participantes. A avaliação da capacidade cardiorrespiratória pelo TCP e a microneurografia, no entanto, foram realizadas por investigadores cegos ao grupo de alocação.

Em segundo lugar, a possibilidade de erro tipo 2, ou seja, de que o treinamento físico influencie de forma significativa a reatividade plaquetária pós-IAM deve ser considerada. Em estudo com pacientes hipertensos submetidos a 12 semanas de treinamento a redução na agregometria óptica no grupo intervenção em relação ao controle foi de 14%.⁽⁶²⁾ Na nossa casuística para se detectar uma diferença semelhante a encontrada por Meirelles e col., seria necessário incluir 88 pacientes em cada grupo (índice alfa 0,05 e poder 80%). No entanto, do ponto de vista de relevância clínica, é observado que apenas variações na reatividade plaquetária acima de 30 a 40% levam a impacto em eventos clínicos, como por exemplo: a) uso de morfina na vigência de SCA leva à elevação da reatividade plaquetária em cerca de 30 a 40%^(88, 89) e se associa à aumento do risco isquêmico quando utilizada precocemente na SCA;⁽⁹⁰⁾ b) uso de inibidor de bomba de prótons aumenta a reatividade plaquetária em 38%^(73, 74) e está associado a aumento do risco de eventos isquêmicos pós-SCA⁽⁹¹⁾ e c) uso de antiplaquetários mais potentes, como ticagrelor e prasugrel, reduzem a reatividade plaquetária em relação ao clopidogrel em mais que 50%⁽⁷³⁾ e se associam a redução do risco de eventos cardiovasculares (óbito, IAM e AVC) em torno de 15 a 20% em relação ao clopidogrel após um ano.^(92, 93)

Em terceiro lugar, utilizou-se análise "por protocolo" em vez de "por intenção de tratar" para se avaliar o objetivo primário. Contudo, pelo fato do estudo ter como objetivo principal um desfecho substituto ou mecanístico, em detrimento de desfechos clínicos robustos (como óbito, IAM ou AVC), a análise somente dos indivíduos que efetivamente realizaram a intervenção prevista no protocolo pode ser justificada. Além disso, quando comparamos as

características basais da população incluída na análise do objetivo principal, os grupos intervenção e controle continuam balanceados entre si e, ao compararmos as características basais dos pacientes excluídos em relação aos incluídos da análise do objetivo principal, não se identificou diferenças para a maioria delas (com exceção do tabagismo, mais frequente no grupo de pacientes excluídos da análise do objetivo principal).

Em quarto lugar, apesar de encontrar um aumento importante na reatividade plaquetária e no IPC após o exercício em nosso estudo, tanto entre pacientes treinados quanto não treinados, esses achados devem ser considerados nominalmente significativos e não ajustados para multiplicidade.

Em quinto lugar, observamos uma modesta taxa de aderência ao programa de reabilitação e elevada taxa de interrupção precoce do seguimento no grupo intervenção: 35,8% dos pacientes randomizados para o grupo intervenção não concluíram o seguimento e, dentre os que completaram, abstiveram-se em média a 27,5% das 36 sessões de treinamento previstas no protocolo, principalmente devido a dificuldades socioeconômicas e de mobilidade urbana. Apesar de ser uma limitação do estudo, a aderência abaixo do desejável é reflexo do observado no mundo real e é inerente a estudos de intervenção que contemplam mudanças estilo de vida. Intervenções comportamentais dependem não apenas da motivação do paciente em participar do estudo, mas também, de um contexto socioeconômico que possibilite a adesão a essas novas rotinas.

Dessa forma, novas estratégias, como a reabilitação cardiovascular domiciliar, com monitorização remota ou semi-supervisionada, a qual já se demonstrou ser equivalente a realizada em centros de reabilitação em relação a

redução de desfechos cardiovasculares e aumento da capacidade funcional, (94, 95) poderiam ser utilizadas em estudos futuros a fim de se incrementar a taxa de aderência.

Finalmente, todos os participantes receberam orientação verbal sobre mudanças de estilo de vida e importância de atividade física como rotina assistencial após o IAM, de modo que não se pode garantir que pacientes do grupo controle não tenham realizado algum grau de atividade física durante o seguimento (apesar de não terem realizado nenhuma forma de treinamento supervisionado e de apenas um paciente ter referido prática de atividade física regular com ≥ 150 minutos de exercício de moderada intensidade por semana).

6 Conclusão

O treinamento físico supervisionado por 14 semanas não reduziu a reatividade plaquetária após episódio de IAM em pacientes utilizando DAP. Além disso, houve aumento de reatividade plaquetária frente ao exercício agudo e intenso, mesmo após os pacientes concluírem o programa de reabilitação e a despeito da DAP. Nossos resultados sugerem que o exercício físico intenso em pacientes de alto risco pode se associar a aumento do risco de eventos isquêmicos, mesmo em pacientes adequadamente tratados e treinados regularmente.

7 Referências

Referência bibliográficas

1. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMC Med.* 2010;8:18.
2. Piercy KL, Troiano RP, Ballard RM, Carlson SA, Fulton JE, Galuska DA, et al. The Physical Activity Guidelines for Americans. *JAMA.* 2018;320(19):2020-8.
3. Kodama S, Saito K, Tanaka S, Maki M, Yachi Y, Asumi M, et al. Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA.* 2009;301(19):2024-35.
4. Letnes JM, Dalen H, Vesterbekkmo EK, Wisloff U, Nes BM. Peak oxygen uptake and incident coronary heart disease in a healthy population: the HUNT Fitness Study. *Eur Heart J.* 2019;40(20):1633-9.
5. Stewart RAH, Held C, Hadziosmanovic N, Armstrong PW, Cannon CP, Granger CB, et al. Physical Activity and Mortality in Patients With Stable Coronary Heart Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017;70(14):1689-700.
6. Anderson L, Oldridge N, Thompson DR, Zwisler AD, Rees K, Martin N, et al. Exercise-Based Cardiac Rehabilitation for Coronary Heart Disease: Cochrane Systematic Review and Meta-Analysis. *J Am Coll Cardiol.* 2016;67(1):1-12.
7. Tofler GH, Muller JE. Triggering of acute cardiovascular disease and potential preventive strategies. *Circulation.* 2006;114(17):1863-72.
8. Obratsov VP SN. The symptomatology and diagnosis of coronary thrombosis. First Congress of Russian Therapists; Russia: Comradeship Typography of A.E. Mamontov; 1910. p. 26-43.
9. Muller JE. Diagnosis of myocardial infarction: historical notes from the Soviet Union and the United States. *Am J Cardiol.* 1977;40(2):269-71.
10. Tofler GH, Stone PH, Maclure M, Edelman E, Davis VG, Robertson T, et al. Analysis of possible triggers of acute myocardial infarction (the MILIS study). *Am J Cardiol.* 1990;66(1):22-7.
11. Smyth A, O'Donnell M, Lamelas P, Teo K, Rangarajan S, Yusuf S, et al. Physical Activity and Anger or Emotional Upset as Triggers of Acute Myocardial Infarction: The INTERHEART Study. *Circulation.* 2016;134(15):1059-67.
12. Mittleman MA, Maclure M, Tofler GH, Sherwood JB, Goldberg RJ, Muller JE. Triggering of acute myocardial infarction by heavy physical exertion. Protection against triggering by regular exertion. Determinants of Myocardial Infarction Onset Study Investigators. *N Engl J Med.* 1993;329(23):1677-83.
13. Hallqvist J, Moller J, Ahlbom A, Diderichsen F, Reuterwall C, de Faire U. Does heavy physical exertion trigger myocardial infarction? A case-crossover analysis nested in a population-based case-referent study. *Am J Epidemiol.* 2000;151(5):459-67.
14. Willich SN, Lewis M, Lowel H, Arntz HR, Schubert F, Schroder R. Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. Triggers and Mechanisms of Myocardial Infarction Study Group. *N Engl J Med.* 1993;329(23):1684-90.
15. Giri S, Thompson PD, Kiernan FJ, Clive J, Fram DB, Mitchel JF, et al. Clinical and angiographic characteristics of exertion-related acute myocardial infarction. *JAMA.* 1999;282(18):1731-6.

16. Tanaka A, Imanishi T, Kitabata H, Kubo T, Takarada S, Tanimoto T, et al. Morphology of exertion-triggered plaque rupture in patients with acute coronary syndrome: an optical coherence tomography study. *Circulation*. 2008;118(23):2368-73.
17. Kop WJ, Weissman NJ, Zhu J, Bonsall RW, Doyle M, Stretch MR, et al. Effects of acute mental stress and exercise on inflammatory markers in patients with coronary artery disease and healthy controls. *Am J Cardiol*. 2008;101(6):767-73.
18. Thompson PD, Franklin BA, Balady GJ, Blair SN, Corrado D, Estes NA, 3rd, et al. Exercise and acute cardiovascular events placing the risks into perspective: a scientific statement from the American Heart Association Council on Nutrition, Physical Activity, and Metabolism and the Council on Clinical Cardiology. *Circulation*. 2007;115(17):2358-68.
19. Wang JS, Cheng LJ. Effect of strenuous, acute exercise on alpha2-adrenergic agonist-potentiated platelet activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1999;19(6):1559-65.
20. Chen YW, Apostolakis S, Lip GY. Exercise-induced changes in inflammatory processes: Implications for thrombogenesis in cardiovascular disease. *Ann Med*. 2014;46(7):439-55.
21. Mimura J, Yuasa F, Yuyama R, Kawamura A, Iwasaki M, Sugiura T, et al. The effect of residential exercise training on baroreflex control of heart rate and sympathetic nerve activity in patients with acute myocardial infarction. *Chest*. 2005;127(4):1108-15.
22. Martinez DG, Nicolau JC, Lage RL, Toschi-Dias E, de Matos LD, Alves MJ, et al. Effects of long-term exercise training on autonomic control in myocardial infarction patients. *Hypertension*. 2011;58(6):1049-56.
23. Winzer EB, Woitek F, Linke A. Physical Activity in the Prevention and Treatment of Coronary Artery Disease. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(4).
24. Bakovic D, Pivac N, Zubin Maslov P, Breskovic T, Damonja G, Dujic Z. Spleen volume changes during adrenergic stimulation with low doses of epinephrine. *J Physiol Pharmacol*. 2013;64(5):649-55.
25. Heber S, Volf I. Effects of Physical (In)activity on Platelet Function. *Biomed Res Int*. 2015;2015:165078.
26. Ahmadizad S, El-Sayed MS. The effects of graded resistance exercise on platelet aggregation and activation. *Med Sci Sports Exerc*. 2003;35(6):1026-32.
27. Wang JS, Jen CJ, Kung HC, Lin LJ, Hsiue TR, Chen HI. Different effects of strenuous exercise and moderate exercise on platelet function in men. *Circulation*. 1994;90(6):2877-85.
28. Alis R, Sanchis-Gomar F, Risso-Ballester J, Blesa JR, Romagnoli M. Effect of training status on the changes in platelet parameters induced by short-duration exhaustive exercise. *Platelets*. 2016;27(2):117-22.
29. Cadroy Y, Pillard F, Sakariassen KS, Thalamas C, Boneu B, Riviere D. Strenuous but not moderate exercise increases the thrombotic tendency in healthy sedentary male volunteers. *J Appl Physiol* (1985). 2002;93(3):829-33.
30. Chu SG, Becker RC, Berger PB, Bhatt DL, Eikelboom JW, Konkle B, et al. Mean platelet volume as a predictor of cardiovascular risk: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost*. 2010;8(1):148-56.
31. Sansanayudh N, Anothaisintawee T, Muntham D, McEvoy M, Attia J, Thakkinstian A. Mean platelet volume and coronary artery disease: a systematic review and meta-analysis. *Int J Cardiol*. 2014;175(3):433-40.

32. Lippi G, Salvagno GL, Danese E, Tarperi C, Guidi GC, Schena F. Variation of red blood cell distribution width and mean platelet volume after moderate endurance exercise. *Adv Hematol.* 2014;2014:192173.
33. Chamberlain KG, Tong M, Penington DG. Properties of the exchangeable splenic platelets released into the circulation during exercise-induced thrombocytosis. *Am J Hematol.* 1990;34(3):161-8.
34. Kratz A, Wood MJ, Siegel AJ, Hiers JR, Van Cott EM. Effects of marathon running on platelet activation markers : direct evidence for in vivo platelet activation. *Am J Clin Pathol.* 2006;125(2):296-300.
35. Yilmaz MB, Saricam E, Biyikoglu SF, Guray Y, Guray U, Sasmaz H, et al. Mean platelet volume and exercise stress test. *J Thromb Thrombolysis.* 2004;17(2):115-20.
36. Cesari F, Marcucci R, Gori AM, Caporale R, Fanelli A, Casola G, et al. Reticulated platelets predict cardiovascular death in acute coronary syndrome patients. Insights from the AMI-Florence 2 Study. *Thromb Haemost.* 2013;109(5):846-53.
37. Ibrahim H, Schutt RC, Hannawi B, DeLao T, Barker CM, Kleiman NS. Association of immature platelets with adverse cardiovascular outcomes. *J Am Coll Cardiol.* 2014;64(20):2122-9.
38. Stratz C, Bomicke T, Younas I, Kittel A, Amann M, Valina CM, et al. Comparison of Immature Platelet Count to Established Predictors of Platelet Reactivity During Thienopyridine Therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2016;68(3):286-93.
39. Cameron HA, Ardlie NG. The facilitating effects of adrenaline on platelet aggregation. *Prostaglandins Leukot Med.* 1982;9(1):117-28.
40. van der Meijden PEJ, Heemskerk JWM. Platelet biology and functions: new concepts and clinical perspectives. *Nat Rev Cardiol.* 2019;16(3):166-79.
41. Kestin AS, Ellis PA, Barnard MR, Errichetti A, Rosner BA, Michelson AD. Effect of strenuous exercise on platelet activation state and reactivity. *Circulation.* 1993;88(4 Pt 1):1502-11.
42. Hjorth Madsen E, Christiansen MK, Schmidt EB, Poulsen TS, Kristensen SR. Effect of exercise on platelet activation during aspirin or clopidogrel intake in healthy men. *Platelets.* 2009;20(3):177-82.
43. Wang JS, Jen CJ, Chen HI. Effects of exercise training and deconditioning on platelet function in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15(10):1668-74.
44. Tozzi-Ciancarelli MG, Penco M, Di Massimo C. Influence of acute exercise on human platelet responsiveness: possible involvement of exercise-induced oxidative stress. *Eur J Appl Physiol.* 2002;86(3):266-72.
45. Aurigemma C, Fattorossi A, Sestito A, Sgueglia GA, Farnetti S, Buzzonetti A, et al. Relationship between changes in platelet reactivity and changes in platelet receptor expression induced by physical exercise. *Thromb Res.* 2007;120(6):901-9.
46. Pamukcu B, Oflaz H, Acar RD, Umman S, Koylan N, Umman B, et al. The role of exercise on platelet aggregation in patients with stable coronary artery disease: exercise induces aspirin resistant platelet activation. *J Thromb Thrombolysis.* 2005;20(1):17-22.
47. Brunner S, Rizas K, Hamm W, Mehr M, Lackermair K. Effect of Physical Exercise on Platelet Reactivity in Patients with Dual Antiplatelet Therapy. *Int J Sports Med.* 2018;39(8):646-52.
48. Andreotti F, Lanza GA, Sciahbasi A, Fischetti D, Sestito A, De Cristofaro R, et al. Low-grade exercise enhances platelet aggregability in patients with obstructive coronary disease independently of myocardial ischemia. *Am J Cardiol.* 2001;87(1):16-20.

49. Lanza GA, Sestito A, Iacovella S, Morlacchi L, Romagnoli E, Schiavoni G, et al. Relation between platelet response to exercise and coronary angiographic findings in patients with effort angina. *Circulation*. 2003;107(10):1378-82.
50. Tokue J, Hayashi J, Hata Y, Nakahara K, Ikeda Y. Enhanced platelet aggregability under high shear stress after treadmill exercise in patients with effort angina. *Thromb Haemost*. 1996;75(5):833-7.
51. Levites R, Haft JI. Effects of exercise-induced stress on platelet aggregation. *Cardiology*. 1975;60(5):304-14.
52. Kobusiak-Prokopowicz M, Kuliczowski W, Karolko B, Prajs I, Mazurek W. Platelet aggregation and P-selectin levels during exercise treadmill test in patients with ischaemic heart disease. *Kardiol Pol*. 2006;64(10):1094-100; discussion 101.
53. Mehta J, Mehta P. Comparison of platelet function during exercise in normal subjects and coronary artery disease patients: Potential role of platelet activation in myocardial ischemia. *Am Heart J*. 1982;103(1):49-53.
54. Petidis K, Douma S, Doumas M, Basagiannis I, Vogiatzis K, Zamboulis C. The interaction of vasoactive substances during exercise modulates platelet aggregation in hypertension and coronary artery disease. *BMC Cardiovasc Disord*. 2008;8:11.
55. Kitai T, Nishikawa M, Tanigawa T, Okinaka T, Wada H, Shiku H, et al. Inhibition by combined therapy with ticlopidine and aspirin of enhanced platelet aggregation during physical exercise in patients with coronary artery disease. *Am Heart J*. 2001;142(2):E1.
56. Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. Increased platelet aggregability during exercise in patients with previous myocardial infarction. Lack of inhibition by aspirin. *Thromb Res*. 2000;99(5):487-94.
57. Wang JS, Li YS, Chen JC, Chen YW. Effects of exercise training and deconditioning on platelet aggregation induced by alternating shear stress in men. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2005;25(2):454-60.
58. Rauramaa R, Salonen JT, Seppanen K, Salonen R, Venalainen JM, Ihanainen M, et al. Inhibition of platelet aggregability by moderate-intensity physical exercise: a randomized clinical trial in overweight men. *Circulation*. 1986;74(5):939-44.
59. Lehmann M, Hasler K, Bergdolt E, Keul J. Alpha-2-adrenoreceptor density on intact platelets and adrenaline-induced platelet aggregation in endurance- and nonendurance-trained subjects. *Int J Sports Med*. 1986;7(3):172-6.
60. Michelson AD, Benoit SE, Furman MI, Breckwoldt WL, Rohrer MJ, Barnard MR, et al. Effects of nitric oxide/EDRF on platelet surface glycoproteins. *Am J Physiol*. 1996;270(5 Pt 2):H1640-8.
61. Wang JS, Jen CJ, Chen HI. Effects of chronic exercise and deconditioning on platelet function in women. *J Appl Physiol* (1985). 1997;83(6):2080-5.
62. de Meirelles LR, Mendes-Ribeiro AC, Mendes MA, da Silva MN, Ellory JC, Mann GE, et al. Chronic exercise reduces platelet activation in hypertension: upregulation of the L-arginine-nitric oxide pathway. *Scand J Med Sci Sports*. 2009;19(1):67-74.
63. El-Sayed MS, Younesian A, Rahman K, Ismail FM, El-Sayed Ali Z. The effects of arm cranking exercise and training on platelet aggregation in male spinal cord individuals. *Thromb Res*. 2004;113(2):129-36.
64. Arosio E, Minuz P, Prior M, Zuliani V, Gaino S, De Marchi S, et al. Vascular adhesion molecule-1 and markers of platelet function before and after a treatment with iloprost or a supervised physical exercise program in patients with peripheral arterial disease. *Life Sci*. 2001;69(4):421-33.

65. Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, Rinaldi MJ, Neumann FJ, Metzger DC, et al. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet*. 2013;382(9892):614-23.
66. Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Ruven HJ, Bal ET, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA*. 2010;303(8):754-62.
67. Aradi D, Kirtane A, Bonello L, Gurbel PA, Tantry US, Huber K, et al. Bleeding and stent thrombosis on P2Y12-inhibitors: collaborative analysis on the role of platelet reactivity for risk stratification after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J*. 2015;36(27):1762-71.
68. van Werkum JW, Harmsze AM, Elsenberg EH, Bouman HJ, ten Berg JM, Hackeng CM. The use of the VerifyNow system to monitor antiplatelet therapy: a review of the current evidence. *Platelets*. 2008;19(7):479-88.
69. Sibbing D, Aradi D, Alexopoulos D, Ten Berg J, Bhatt DL, Bonello L, et al. Updated Expert Consensus Statement on Platelet Function and Genetic Testing for Guiding P2Y12 Receptor Inhibitor Treatment in Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2019.
70. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*. 1999;130(6):461-70.
71. Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, Pieper KS, Eagle KA, Van de Werf F, et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE). *BMJ*. 2006;333(7578):1091.
72. Alexopoulos D, Galati A, Xanthopoulou I, Mavronasiou E, Kassimis G, Theodoropoulos KC, et al. Ticagrelor versus prasugrel in acute coronary syndrome patients with high on-clopidogrel platelet reactivity following percutaneous coronary intervention: a pharmacodynamic study. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(3):193-9.
73. Storey RF, Angiolillo DJ, Patil SB, Desai B, Ecob R, Husted S, et al. Inhibitory effects of ticagrelor compared with clopidogrel on platelet function in patients with acute coronary syndromes: the PLATO (PLATElet inhibition and patient Outcomes) PLATELET substudy. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(18):1456-62.
74. Furtado RHM, Giugliano RP, Strunz CMC, Filho CC, Ramires JAF, Filho RK, et al. Drug Interaction Between Clopidogrel and Ranitidine or Omeprazole in Stable Coronary Artery Disease: A Double-Blind, Double Dummy, Randomized Study. *Am J Cardiovasc Drugs*. 2016;16(4):275-84.
75. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016;37(3):267-315.
76. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, et al. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute

myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2018;39(2):119-77.

77. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60(16):1581-98.

78. Al-Azzam SI, Alzoubi KH, Khabour O, Alowidi A, Tawalbeh D. The prevalence and factors associated with aspirin resistance in patients premedicated with aspirin. *Acta Cardiol*. 2012;67(4):445-8.

79. Ault KA, Cannon CP, Mitchell J, McCahan J, Tracy RP, Novotny WF, et al. Platelet activation in patients after an acute coronary syndrome: results from the TIMI-12 trial. *Thrombolysis in Myocardial Infarction*. *J Am Coll Cardiol*. 1999;33(3):634-9.

80. Taylor JL, Holland DJ, Keating SE, Leveritt MD, Gomersall SR, Rowlands AV, et al. Short-term and Long-term Feasibility, Safety, and Efficacy of High-Intensity Interval Training in Cardiac Rehabilitation: The FITR Heart Study Randomized Clinical Trial. *JAMA Cardiol*. 2020.

81. Gurbel PA, Bliden KP, Butler K, Tantry US, Gesheff T, Wei C, et al. Randomized double-blind assessment of the ONSET and OFFSET of the antiplatelet effects of ticagrelor versus clopidogrel in patients with stable coronary artery disease: the ONSET/OFFSET study. *Circulation*. 2009;120(25):2577-85.

82. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation*. 2003;107(23):2908-13.

83. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*. 2009;360(4):354-62.

84. Povsic TJ, Ohman EM, Roe MT, White J, Rockhold FW, Montalescot G, et al. P2Y12 Inhibitor Switching in Response to Routine Notification of CYP2C19 Clopidogrel Metabolizer Status Following Acute Coronary Syndromes. *JAMA Cardiol*. 2019;4(7):680-4.

85. Siller-Matula JM, Trenk D, Krahenbuhl S, Michelson AD, Delle-Karth G. Clinical implications of drug-drug interactions with P2Y12 receptor inhibitors. *J Thromb Haemost*. 2014;12(1):2-13.

86. Elliott AD, Rajopadhyaya K, Bentley DJ, Beltrame JF, Aromataris EC. Interval training versus continuous exercise in patients with coronary artery disease: a meta-analysis. *Heart Lung Circ*. 2015;24(2):149-57.

87. Laterza MC, de Matos LD, Trombetta IC, Braga AM, Roveda F, Alves MJ, et al. Exercise training restores baroreflex sensitivity in never-treated hypertensive patients. *Hypertension*. 2007;49(6):1298-306.

88. Parodi G, Bellandi B, Xanthopoulou I, Capranzano P, Capodanno D, Valenti R, et al. Morphine is associated with a delayed activity of oral antiplatelet agents in patients with ST-elevation acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention. *Circ Cardiovasc Interv*. 2015;8(1).

89. Hobl EL, Stimpfl T, Ebner J, Schoergenhofer C, Derhaschnig U, Sunder-Plassmann R, et al. Morphine decreases clopidogrel concentrations and effects: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(7):630-5.

90. Furtado RHM, Nicolau JC, Guo J, Im K, White JA, Sabatine MS, et al. Morphine and Cardiovascular Outcomes Among Patients With Non-ST-Segment Elevation Acute Coronary Syndromes Undergoing Coronary Angiography. *J Am Coll Cardiol*. 2020;75(3):289-300.

-
91. Hulot JS, Collet JP, Silvain J, Pena A, Bellemain-Appaix A, Barthelemy O, et al. Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56(2):134-43.
 92. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009;361(11):1045-57.
 93. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2007;357(20):2001-15.
 94. Buckingham SA, Taylor RS, Jolly K, Zawada A, Dean SG, Cowie A, et al. Home-based versus centre-based cardiac rehabilitation: abridged Cochrane systematic review and meta-analysis. *Open Heart*. 2016;3(2):e000463.
 95. Carvalho T, Milani M, Ferraz AS, Silveira ADD, Herdy AH, Hossri CAC, et al. Brazilian Cardiovascular Rehabilitation Guideline - 2020. *Arq Bras Cardiol*. 2020;114(5):943-87.