

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA

ALINE GEHLEN FERRARI

Efeito do metotrexato carregado por nanoemulsão lipídica no
remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio
com supradesnível do segmento ST

São Paulo
2025

ALINE GEHLEN FERRARI

Efeito do metotrexato carregado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST.

Versão Original

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

Programa de Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. José Carlos Nicolau

São Paulo

2025

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

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

©reprodução autorizada pelo autor

Ferrari, Aline Gehlen

Efeito do metotrexato carregado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST / Aline Gehlen Ferrari; José Carlos Nicolau, orientador. -- São Paulo, 2025.

Tese (Doutorado) -- Programa de Cardiologia. Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, 2025.

1.Metotrexato 2.Nanoemulsão lipídica 3.Infarto do miocárdio 4.Remodelamento ventricular esquerdo 5.Tamanho do infarto I.Nicolau, José Carlos, orient. II.Título

USP/FM/DBD-076/25

Responsável: Daniela Amaral Barbosa, CRB-8 7533

Ferrari AG. Efeito do metotrexato carregado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST [doutorado]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2025.

Aprovada em: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof. Dr. _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

À minha família, pelo incentivo e pelo apoio incondicional ao longo desta jornada.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Nicolau pela orientação e ensinamentos fundamentais em doença coronária e pesquisa clínica.

Ao Prof. Dr. Maranhão, pela confiança e oportunidade de levar adiante este projeto inédito e complexo.

Aos Prof. Dr. Paul M. Ridker, Prof. Dr. Robert P. Giuliano e Prof. Dr. Marc S. Sabatine pelo apoio e sugestões no desenvolvimento do protocolo e da publicação.

À Dra. Rocío Salsoso pela parceria e contribuição ao longo desta jornada.

À Dra. Thauany Tavoni, por todo o empenho na execução deste projeto.

À Mestre Creusa Maria Roveri dal Bó, pelo auxílio com as análises estatísticas.

Ao Dr. Otavio Berwanger pela colaboração nas análises interinas.

Ao Dr. Carlos Rochitte e ao Dr. Cesar Nomura pelo auxílio na elaboração da metodologia do estudo e à Gabriela Liberato pelas análises de ressonância magnética cardíaca.

Ao Dr. Remo Holanda pelo suporte e consultoria na elaboração do artigo.

À Dra. Célia Strunz e sua equipe do Laboratório de Análises Clínicas, pela assistência com as análises laboratoriais.

Às equipes da Unidade Clínica de Coronariopatia Aguda, do Centro de Pesquisa e do Setor de Emergência do InCor-HCFMUSP pelo apoio.

À Dra. Talia Falcão Dalçóquio, por me acolher, ensinar e amparar continuamente.

Ao meu marido, pela paciência, compreensão, incentivo e suporte em todos os momentos.

RESUMO

Ferrari AG. Efeito do metotrexato carregado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2025.

Introdução: A inflamação desempenha um papel central na fisiopatologia do infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSSST) contribuindo para maior tamanho do infarto e pior remodelamento ventricular esquerdo (RVE). O metotrexato (MTX) é um potente anti-inflamatório com potencial benefício no tratamento do IAMCSSST. Estudos experimentais sugerem que uma formulação de MTX incorporada em nanoemulsão lipídica (LDE-MTX) poderia ser benéfica e segura neste contexto. **Objetivos:** Avaliar a eficácia e a segurança do LDE-MTX em pacientes com IAMCSSST. **Métodos:** Estudo randomizado, duplo-cego, controlado por placebo e prova de conceito. Os pacientes foram randomizados 4±2 dias após o primeiro IAMCSSST de parede anterior para receber LDE-MTX (40mg/m² em infusão intravenosa) ou LDE-Placebo semanalmente por 6 semanas. O desfecho primário de eficácia foi o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) analisado por ressonância magnética cardíaca 90±7 dias após a randomização. Os desfechos secundários de eficácia incluíram análises de outros parâmetros de RVE e tamanho do infarto. Os principais desfechos de segurança foram eventos adversos graves, toxicidade hematológica, renal e hepática. **Resultados:** Devido à pandemia de COVID-19, o estudo foi interrompido precocemente, com 32 pacientes randomizados completando o protocolo (15 no grupo LDE-placebo, 17 no grupo LDE-MTX). Aos 90 dias, não houve diferença no VDFVE entre os grupos. Dentre os desfechos secundários pré-especificados, notou-se aparente redução do tamanho do infarto (% do VE) a favor do grupo LDE-MTX [-2,61 (-6,46; 0,12) vs -6,40 (-13,22; -3,86), p=0,030]. O LDE-MTX foi bem tolerado e não houve diferenças nos parâmetros de segurança entre os grupos. **Conclusões:** Em pacientes com IAMCSSST, o LDE-MTX parece ser seguro, mas não influenciou o VDFVE e outros parâmetros de RVE, embora aparentemente tenha reduzido o tamanho do infarto aos 90 dias pós-infarto. Esses resultados geradores de hipóteses apoiam futura a investigação de uma abordagem inovadora de nanomedicina para IAMCSSST em ensaios clínicos maiores.

Palavras-chave: Metotrexato. Nanoemulsão lipídica. Infarto do miocárdio. Remodelamento ventricular esquerdo. Tamanho do infarto.

ABSTRACT

Ferrari AG. Effect of methotrexate carried by lipid nanoemulsion on left ventricular remodeling after ST-segment elevation myocardial infarction [thesis]. São Paulo: “Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo”; 2025.

Background: Inflammation plays a central role in the pathophysiology of ST-elevation myocardial infarction (STEMI), contributing to greater infarct size (IS) and left ventricular remodeling (LVR). Methotrexate (MTX) is a potent anti-inflammatory drug with a potential benefit in the treatment of STEMI. Experimental studies suggested that a formulation of MTX incorporated into lipid nanoemulsion (LDE-MTX), could be beneficial and safe. Objectives: To evaluate the efficacy and safety of LDE-MTX in patients with STEMI. Methods: Randomized, double-blinded, placebo-controlled, proof of concept study. Patients were randomized 4±2 days after first anterior STEMI to receive LDE-MTX (40 mg/m² intravenous infusion) or LDE-placebo weekly for 6 weeks. The primary efficacy endpoint was left ventricle end-diastolic volume (LVEDV) analyzed by cardiac magnetic resonance at 90±7 days after randomization. Main secondary endpoints were other LVR parameters and IS. Main safety endpoints were serious adverse events and toxicity (hematological, renal and hepatic). Results: Due to the COVID-19 pandemic, the study was stopped prematurely, with 32 randomized patients (15 LDE-placebo, 17 LDE-MTX) completing the protocol. At 90 days there was no difference in LVEDV between groups. Amongst other secondary endpoints, there appeared to be a greater reduction of IS (% of LV) in favor of the LDE-MTX LDE-MTX [-2,61 (-6,46; 0,12) vs -6,40 (-13,22; -3,86), p=0,030]. LDE-MTX was well tolerated and there were no differences between groups regarding safety endpoints. Conclusions: In patients with STEMI, LDE-MTX appears to be safe but did not influence LVEDV and other LVR parameters, although it possibly reduced infarct size at 90 days. These hypothesis-generating results support continued investigation of a novel nanomedicine approach to STEMI in larger trials.

Keywords: Methotrexate. Lipid nanoemulsion. Myocardial infarction. Left ventricle remodeling. Infarct size.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Desenho e procedimentos do estudo	25
Figura 2 - Infarto agudo do miocárdio de parede anterior visualizado pela ressonância magnética cardíaca	32
Figura 3 - Evolução do infarto agudo do miocárdio de parede anterior visualizado pela ressonância magnética cardíaca.....	32
Figura 4 - Fluxograma do processo de recrutamento, alocação, seguimento e análise de dados [CONSORT ⁷³].....	41

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Esquema do plano de visitas do estudo.....	25
Quadro 2 - Algoritmo de suspensão da medicação do estudo	26

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características basais da população	42
Tabela 2 - Medicções basais utilizadas pela população	43
Tabela 3 - Características do evento-índice na população	43
Tabela 4 - Número de doses da medicação do estudo ao longo do seguimento	44
Tabela 5 - Frequência cardíaca no momento da ressonância magnética cardíaca	44
Tabela 6 - Volume diastólico final do ventrículo esquerdo	45
Tabela 7 - Tamanho do infarto	47
Tabela 8 - Massa ventricular esquerda	48
Tabela 9 - Volume sistólico final do ventrículo esquerdo	49
Tabela 10 - Fração de ejeção do ventrículo esquerdo	49
Tabela 11 - Remodelamento adverso e reverso ao final do seguimento	50
Tabela 12 - Sintomas clinicamente significativos ao longo do seguimento*	50
Tabela 13 - Eventos adversos sérios ao longo do seguimento	52
Tabela 14 - Alterações laboratoriais significativas ao longo do seguimento	53
Tabela 15 - Parâmetros de inflamação	53
Tabela 16 - Agregabilidade plaquetária	54
Tabela 17 - Peptídeo natriurético tipo B	54
Tabela 18 - Perfil lipídico e glicêmico	54
Tabela 19 - Adenosina ^{&} , segundo o momento e o grupo de estudo	55
Tabela 20 - Variação dos níveis de adenosina (nmol/L) ao longo do seguimento	56
Tabela 21 - Medidas relacionadas ao ventrículo esquerdo – análise “per-protocol” (apenas pacientes que receberam 6 doses da medicação do estudo)	57
Tabela 22 - Avaliação de área de edema	58
Tabela 23 - Avaliação de área de miocárdio salvo	58

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Volume diastólico final do ventrículo esquerdo ao final do seguimento	45
Gráfico 2 - Diferença no volume diastólico final do ventrículo esquerdo indexado pela área de superfície corporal entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento.....	46
Gráfico 3 - Diferença no tamanho do infarto entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento	47
Gráfico 4 - Diferença na massa ventricular esquerda indexada pela área de superfície corporal entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento.....	48
Gráfico 5 - Correlação entre marcadores inflamatórios, BNP e agregabilidade plaquetária e área de obstrução microvascular na população analisada (n=32).....	55
Gráfico 6 - Presença de obstrução microvascular.....	58

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AAS	- Ácido acetilsalicílico
ADP	- Difosfato de adenosina
ALT	- Alanina aminotransferase
AR	- Receptores de adenosina acoplados à proteína G
AST	- Aspartato aminotransferase,
AVC	- Acidente vascular cerebral
BNP	- Peptídeo natriurético tipo B
BRA	- Bloqueador do receptor de angiotensina-II
CKMB	- Creatinofosfoquinase fração MB
CONEP	- Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
COVID-19	- Doença causada pelo vírus SARS-CoV2
DAC	- Doença arterial coronariana
DCV	- Doença cardiovascular
ddMTX	- Didodecil metotrexato
DP	- Desvio-padrão
EAS	- Eventos adversos sérios
FAPESP	- Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo
FC	- Frequência cardíaca
FEVE	- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo
FWHM	- <i>Full-width at half-maximum</i>
HbA1c	- Hemoglobina glicada
HCFMUSP	- Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
HDL	- <i>High-density lipoprotein</i>
HIV	- Vírus da imunodeficiência humana
i	- indexado pela área de superfície corporal
IAM	- Infarto agudo do miocárdio
IAMCSSST	- Infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST
IBP	- Inibidor de bomba de prótons.
IC	- Insuficiência cardíaca
ICHC-FMUSP	- Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
ICP	- Intervenção coronária percutânea

iECA	- Inibidor da enzima de conversão da angiotensina II;
IFCC	- <i>International Federation of Clinical Chemistry</i>
IL-10	- Interleucina-10
IL-6	- Interleucina-6
InCor	- Instituto do Coração
IPC	- Contagem de plaquetas imaturas
IPF	- Fração de plaquetas imaturas
IV	- Intravenoso
LDE	- Nanoemulsão lipídica
LDE-MTX	- Metotrexato incorporado em nanoemulsão lipídica
LDL	- <i>Low-density lipoprotein</i>
LGE	- Realce tardio
LSN	- Limite superior da normalidade.
MDRD	- <i>Modification of diet in renal disease</i>
MTX	- Metotrexato
MVE	- Massa ventricular esquerda
MVO	- Obstrução microvascular
NYHA	- <i>New York Heart Association</i>
PAS	- Pressão arterial sistólica
PCR-us	- Proteína C ultrasensível
RMC	- Ressonância magnética cardíaca
RVE	- Remodelamento ventricular esquerdo
T2W-STIR	- Sequência para avaliação de edema pela ressonância magnética cardíaca
TCLE	- Termo de consentimento livre e esclarecido;
TIMI	- <i>Thrombolysis in myocardial infarction</i>
TNF- α	- Fator de necrose tumoral α
TVE	- Trombo em ventrículo esquerdo
UCO	- Unidade Coronária de Terapia Intensiva.
VD	- Ventrículo direito
VDFVE	- Volume diastólico final do ventrículo esquerdo
VE	- Ventrículo esquerdo
VO	- Via oral
VPM	- Plaquetário médio
VSFVE	- Volume sistólico final do ventrículo esquerdo

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	14
1.1	INFLAMAÇÃO E REMODELAMENTO VENTRICULAR ESQUERDO NO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO	15
1.2	METOTREXATO E NANOEMULSÕES LIPÍDICAS	17
1.3	ADENOSINA COMO MEDIADOR DOS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DO METOTREXATO	19
2	OBJETIVOS	20
2.1	OBJETIVO PRIMÁRIO	21
2.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA	21
2.3	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA	21
2.4	OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS EXPLORATÓRIOS	22
3	MÉTODOS	23
3.1	DESENHO DO ESTUDO	24
3.2	CASUÍSTICA	26
3.3	CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE	27
3.3.1	Critérios de inclusão	27
3.3.2	Critérios de exclusão	27
3.4	PROCEDIMENTOS	29
3.5	MEDICAÇÃO DO ESTUDO	29
3.6	RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CARDÍACA (RMC)	31
3.7	COLETAS DE SANGUE	33
3.8	METODOLOGIA DOS EXAMES LABORATORIAIS	33
3.9	ANÁLISES ESTATÍSTICAS	37
3.10	FINANCIAMENTO	38
3.11	QUESTÕES ÉTICAS	38
4	RESULTADOS	39
4.1	RECRUTAMENTO E FLUXO DE PARTICIPANTES	40
4.2	CARACTERÍSTICAS BASAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA	41
4.3	OBJETIVO PRIMÁRIO	44
4.4	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA	46
4.5	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA	50
4.6	OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS EXPLORATÓRIOS	53
4.7	ANÁLISES POST-HOC	56
5	DISCUSSÃO	59
5.1	OBJETIVO PRIMÁRIO	60
5.2	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA	61
5.3	OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA	63
5.4	LIMITAÇÕES	64
6	CONCLUSÃO	65
	REFERÊNCIAS	67
	APÊNDICE	77
	ANEXOS	83

1 INTRODUÇÃO

1.1 INFLAMAÇÃO E REMODELAMENTO VENTRICULAR ESQUERDO NO INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

O infarto agudo do miocárdio (IAM) é uma das principais causas de morbimortalidade cardiovascular mundialmente. Apesar das terapias de reperfusão e do tratamento intra-hospitalar e no longo prazo pós-IAM terem avançado muito nas últimas décadas, ainda existe uma lacuna no tratamento já que esses pacientes apresentam um risco residual que pode estar, ao menos em parte, relacionado à inflamação¹.

A inflamação é extremamente importante na fisiopatologia da aterosclerose e da aterotrombose², assim como no pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSSST), onde participa ativamente do processo de cicatrização e, conseqüentemente, do remodelamento ventricular esquerdo (RVE) e do prognóstico³.

A reperfusão precoce bem-sucedida é altamente eficaz para limitar a necrose tissular e melhorar desfechos no IAMCSSST; entretanto, em muitos casos ocorre comprometimento residual da microcirculação, fenômeno também relacionado à inflamação, o que piora o RVE mesmo na presença de fluxo TIMI 3⁴. Adicionalmente, a inflamação pode estender-se para o miocárdio remoto não infartado, o que também pode contribuir para pior RVE⁵.

Apesar do tamanho do infarto estar relacionado ao desenvolvimento de RVE positivo (ou adverso como querem alguns), caracterizado por aumento volumétrico e alteração da conformação do VE, alguns pacientes com infartos relativamente pequenos também apresentam esse padrão. Assim sendo, além do tamanho do IAM, diferenças individuais na resposta inflamatória, em parte genética, epigenética, ambiental ou patogênicamente moduladas, também parecem contribuir para o RVE⁶.

O uso de biomarcadores inflamatórios para prever risco, monitorar tratamentos e guiar terapias tem mostrado bom potencial de aplicabilidade clínica. Por exemplo, estudos em prevenção primária e secundária de doença cardiovascular (DCV) mostraram que indivíduos com menores níveis de proteína C ultrasensível (PCR-us) têm melhores desfechos clínicos quando comparados com aqueles que apresentam níveis elevados⁷⁻¹¹; além disso, PCR-us pode ser uma ferramenta adicional no auxílio à classificação de risco cardiovascular¹².

Neste sentido, estudos com altas doses de estatinas em pacientes com DAC demonstraram correlação entre decréscimo da PCR-us e diminuição na taxa de progressão da placa aterosclerótica^{13 14}. Adicionalmente, uma subanálise do estudo VISTA-16, evidenciou que aumentos progressivos na PCR-us após um episódio de SCA, se associaram a maior risco cardiovascular¹⁵.

Assim, a teoria inflamatória na aterosclerose vem sendo testada com tratamentos direcionados à diminuição da inflamação, de forma independente do controle do perfil lipídico.

No estudo CANTOS, Ridker et al.¹⁶, ao analisarem pacientes clinicamente estáveis com níveis elevados de PCR-us e IAM prévio, demonstraram a superioridade do canakinumab (anticorpo monoclonal anti-interleucina-1 β) em relação a placebo, no desfecho composto por IAM não fatal, AVC não fatal e morte cardiovascular (HR 0,83; IC 95% 0,73–0,95; p=0,005). Um subestudo do CANTOS encontrou correlação positiva entre a magnitude da redução de PCR-us e a magnitude do benefício clínico¹⁷.

Ainda no cenário de doença coronariana crônica, os estudos LoDoCo¹⁸ e LoDoCo2¹⁹ demonstraram benefício do uso de dose baixa de colchicina em adição à terapia padrão, com redução de eventos cardiovasculares.

Já na fase aguda, o estudo COLCOT demonstrou benefício do uso de colchicina em baixa dose (0,5mg/dia) em pacientes pós-IAM, com redução de desfecho composto por morte cardiovascular, parada cardíaca reanimada, IAM, acidente vascular cerebral (AVC) e hospitalização por angina com necessidade de revascularização (HR 0,77; IC 0,61-0,96; p=0,02)²⁰. Além disso, uma subanálise deste estudo demonstrou maior benefício do uso precoce intra-hospitalar da medicação (até 3 dias após o evento)²¹. Por outro lado, no estudo COVERT-MI, com uso de colchicina em alta dose pós-IAMCSSST, não houve redução do tamanho do infarto avaliada pela ressonância magnética cardíaca (RMC) após 5 dias²². Finalmente, o inibidor do receptor de interleucina 6 (IL-6) tocilizumabe foi testado em pacientes com IAMCSSST e demonstrou melhor índice de miocárdio salvo quando comparado com placebo²³.

Existe, portanto, um racional favorável ao uso de terapias anti-inflamatórias como adjuvantes às terapias de reperfusão, no sentido de atenuar ou prevenir a disfunção ventricular esquerda pós-IAM⁶.

Terapias com células tronco vem sendo estudadas neste contexto com alguns resultados promissores em estudos experimentais^{24,25}, porém ainda sem evidência de benefício em estudos clínicos²⁶.

1.2 METOTREXATO E NANOEMULSÕES LIPÍDICAS

Dentre as terapias anti-inflamatórias disponíveis, o metotrexato (MTX) é uma das mais utilizadas, principalmente no tratamento das doenças reumatológicas e oncológicas. Este fármaco reduz os níveis de vários biomarcadores inflamatórios, como PCR-us, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral α (TNF- α)²⁷, sem afetar negativamente o perfil lipídico, homocisteína, níveis glicêmicos ou pressão arterial²⁸. Além disso, há evidências de que o MTX atua liberando diretamente e indiretamente adenosina^{27,29}, o que pode ser especialmente útil em pacientes na fase inicial do IAMCSSST^{30,31}.

Em revisão sistemática com doentes reumatológicos (incluindo aqueles com artrite reumatoide, psoríase ou poliartrite), o MTX associou-se a um risco 21% menor de DCV e 18% menor de IAM, sugerindo que seu uso pode reduzir o risco cardiovascular de forma significativa³².

Para explorar esta opção de tratamento, MTX em dose baixa via oral (15-20mg/semana) foi testado contra placebo para prevenção secundária em pacientes de alto risco com doença arterial coronariana (DAC) estável no estudo Cardiovascular *Inflammation Reduction Trial* (CIRT), com seguimento médio de 2,3 anos^{33,34}. Neste estudo, não houve diferença significativa entre os grupos em termos de eventos cardiovasculares ou mortalidade por todas as causas. Além disso, o estudo evidenciou maior incidência de eventos adversos, como elevações modestas de transaminases e redução na contagem de leucócitos e hematócrito, além de maior incidência de câncer de pele não-basocelular no grupo MTX, quando comparado ao grupo placebo³⁵.

Outro estudo com metotrexato em baixa dose³⁶, mas para pacientes com insuficiência cardíaca de etiologia isquêmica, não mostrou diferença no teste de caminhada de 6 minutos ou em desfechos secundários.

Já no cenário da fase inicial do IAMCSSST, em estudo experimental com cães, o uso do metotrexato se associou a menor tamanho de infarto, quando comparado a placebo³⁷. Este resultado serviu de base para o estudo TETHYS^{38,39}, realizado com pacientes com IAMCSSST, na fase hiperaguda do evento, utilizando metotrexato em baixa dose, com bolus endovenoso antes da intervenção coronária percutânea e manutenção por 6 horas após o procedimento. O desfecho primário foi a área sob a curva da creatinoquinase (CK), como desfecho substituto para tamanho de infarto, sem diferença entre os grupos metotrexato e placebo.

No sentido de reduzir os efeitos colaterais potenciais do MTX^{40,41}, Moura et al.⁴² desenvolveram uma formulação utilizando um derivado lipofílico do MTX, o didodecil metotrexato (ddMTX), associado nanoemulsão lipídica (LDE-MTX).

Nanoemulsões lipídicas (LDE), que se ligam a receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), foram primeiramente desenvolvidas e estudadas no cenário oncológico por Maranhão et al.⁴³, que demonstraram que os agentes quimioterápicos associados ao LDE são concentrados nos tecidos com superexpressão de receptores de *low-density lipoprotein* (LDL), diminuindo a toxicidade do tratamento. Esta nanoemulsão já foi testada em pacientes com leucemia aguda⁴³, mieloma múltiplo⁴⁴ e linfoma Hodgkin e não-Hodgkin⁴⁵, demonstrando que a LDE é absorvida por células malignas com elevado número de receptores LDL e que pode ser utilizada como veículo para administração de medicações com alta eficiência.

A formulação LDE-MTX é estável e sua absorção pelas células neoplásicas in vitro foi melhor do que a preparação comercial do MTX, com menor toxicidade hematológica⁴³. Adicionalmente, a LDE-MTX intravenosa foi testada em coelhos, com evidência de melhores efeitos anti-inflamatórios na sinóvia das articulações com artrite, em relação à preparação comercial do MTX, sendo esses resultados relacionados a maior absorção de MTX pelas articulações quando o medicamento é associado à LDE⁴⁶.

Especificamente no cenário da DAC estável, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol, a LDE-MTX reduziu a formação de lesões ateroscleróticas e a inflamação vascular⁴⁷. Já no cenário de IAMCSSST, em ratos Wistar tratados com LDE isolado, MTX comercial ou LDE-MTX, houve significativa melhora no RVE e diminuição do tamanho do infarto no grupo LDE-MTX, em comparação com os grupos MTX comercial e LDE isolado, com excelente perfil de segurança⁴⁸.

1.3 ADENOSINA COMO MEDIADOR DOS EFEITOS ANTI-INFLAMATÓRIOS DO METOTREXATO

Um dos principais mecanismos anti-inflamatórios do MTX é mediado pela liberação extracelular de adenosina⁴⁹⁻⁵¹. Diversos estudos demonstraram que a adenosina desempenha papel crucial na regulação da homeostase imunológica por meio da calibração da atividade das células imunológicas, promovendo melhora na inflamação^{52,53}. A adenosina, que é um nucleosídeo de purina endógeno chave, modula o sistema imunológico ao ativar quatro receptores de adenosina acoplados à proteína G (ARs): A₁, A_{2A}, A_{2B} e A₃⁵⁴. Tem sido relatado que células do sistema imune, como neutrófilos, monócitos, macrófagos, células dendríticas e linfócitos, expressam ARs. A ativação desses receptores diminui a produção de várias citocinas inflamatórias como TNF- α e IL-6, e aumenta a produção de citocinas anti-inflamatórias como IL-10⁵⁵. No entanto, se o MTX aumenta os níveis plasmáticos de adenosina em pacientes com IAM, e se esses níveis são suficientes para induzir a ativação de ARs e gerar um efeito anti-inflamatório, ainda não está definido.

Apesar do racional bastante atraente, e das evidências previamente apresentadas, não há dados disponíveis sobre o papel do LDE-MTX no RVE e tamanho do infarto em humanos, foco principal do presente estudo.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

Avaliar o efeito do LDE-MTX no remodelamento ventricular esquerdo em pacientes com primo IAMCSSST de parede anterior, avaliado pelo volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) ao final de 3 meses de seguimento, obtido pela ressonância magnética cardíaca (RMC).

2.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA

Comparar, entre os grupos LDE-MTX e LDE-placebo, os seguintes parâmetros obtidos pela RMC ao final do seguimento de 3 meses e sua variação ao longo do seguimento:

- Tamanho do infarto;
- Massa ventricular esquerda (MVE);
- Volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE);
- Fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE);
- Percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento adverso (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso ($\geq 10\%$ de redução no VSFVE).

2.3 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA

Comparar, entre os grupos LDE-MTX e LDE-placebo ao final do seguimento de 3 meses, as seguintes variáveis de segurança:

- Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia);
- Eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras à vida ou que resultem em sequela/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado)⁵⁶;

- Parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária);
- Marcadores de lesão hepática (transaminases), bilirrubinas;
- Função renal - taxa de filtração glomerular (TGF) estimada pela fórmula do estudo *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD)⁵⁷.

2.4 OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS EXPLORATÓRIOS

- a) Comparar, entre os grupos LDE-MTX e placebo, os seguintes parâmetros ao final do seguimento de 3 meses e sua variação ao longo do seguimento:
 - Relacionados à inflamação: proteína C reativa ultrasensível (PCR-us); interleucina-6 (IL-6); interleucina-10 (IL-10); fator de necrose tumoral α (TNF α);
 - Relacionados às plaquetas: agregabilidade plaquetária (medida pelo método Multiplate® ADP test); volume plaquetário médio (VPM); fração de plaquetas imaturas (IPF);
 - Peptídeo natriurético tipo B (BNP);
 - Perfil lipídico e glicêmico [colesterol total, *high-density lipoprotein* (HDL), LDL, triglicerídeos e hemoglobina glicada];
- b) Avaliar eventual correlação entre marcadores inflamatórios (PCR-us e IL-6), BNP e agregabilidade plaquetária (medida pelo método Multiplate® ADP test) com a microcirculação avaliada pela RMC ao início e ao final do seguimento de 3 meses.
- c) Avaliar, nos grupos MTX-LDE e placebo-LDE, os níveis plasmáticos de adenosina antes da primeira dose da medicação do estudo, 2 a 4 dias após a primeira dose e após a última dose da medicação do estudo.

3 MÉTODOS

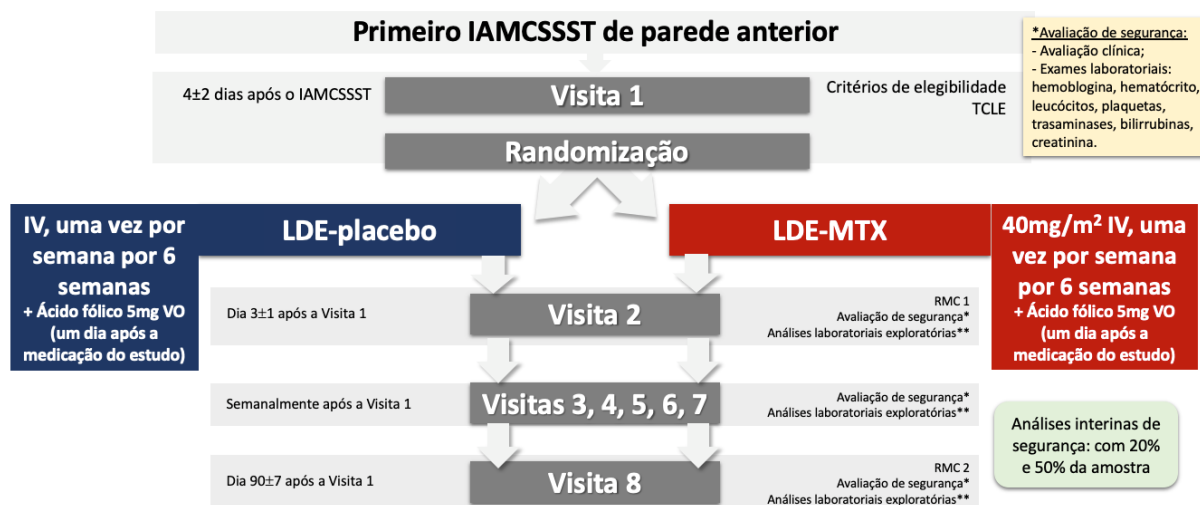
3.1 DESENHO DO ESTUDO

Estudo clínico prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, “prova de conceito”. Pacientes com primo IAMCSST de parede anterior hospitalizados no Instituto do Coração (InCor) do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP) foram randomizados com 4 ± 2 dias após o início dos sintomas para receberem LDE-MTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana, por 6 semanas. Todos os participantes do estudo receberam adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo.

A randomização foi realizada pela Divisão de Farmácia do Instituto Central do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (ICHCFMUSP), na taxa de 1:1 (1 controle:1 intervenção), em blocos permutáveis de 6 ou 8 pacientes. Três envelopes lacrados foram entregues com a randomização, sendo: 1 para a farmacêutica responsável pelo preparo e dispensação da medicação do estudo; 1 para o pesquisador responsável pelas análises interinas de segurança; e 1 para a pesquisadora executante (para abertura ao final do estudo). O princípio da alocação sigilosa não foi violado.

Todos os pacientes foram submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais cuidadosas de segurança antes da administração da medicação do estudo e ao final de 3 meses, conforme fluxograma (Figura 1) e plano de visitas (Quadro 1) pré-determinados. Avaliações de segurança incluíram avaliação de sintomas clinicamente significativos, eventos adversos sérios, testes laboratoriais, procedimentos médicos planejados que necessitassem a suspensão da medicação do estudo e ocorrência de eventos clínicos de interesse especial. Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo baseado nas avaliações clínicas e laboratoriais foi seguido de forma padronizada^{34,58}, conforme Quadro 2, podendo ser temporária ou definitiva, baseada na avaliação clínica.

Figura 1 - Desenho e procedimentos do estudo



IAMCSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; TCLE: termo de consentimento livre e esclarecido; RMC: Ressonância magnética cardíaca; IV: intravenoso; VO: via oral; ** Conforme definido no protocolo.

Quadro 1 - Esquema do plano de visitas do estudo

VISITA	1	2	3	4	5	6	7	8
Tempo entre as visitas (dias)	0	3±1	7±1*	7±1	7±1	7±1	7±1	90±7*
Medicação do estudo	X		X	X	X	X	X	
Avaliação clínica	X		X	X	X	X	X	X
Ressonância magnética cardíaca		X						X
Hemograma completo	X	X	X	X	X	X	X	X
Transaminases	X		X	X	X	X	X	X
Bilirrubinas	X		X	X	X	X	X	X
Creatinina	X		X	X	X	X	X	X
Albumina	X							X
Hemoglobina glicada	X							X
Colesterol total e frações	X							X
Triglicerídeos	X							X
Troponina (pico)	X							
Creatinofosfoquinase fração MB (pico)	X							
Multiplate® ADPtest		X						X
VPM		X						X
IPF/IPC		X						X
IL-6		X						X
IL-10		X						X
TNF-α		X						X
PCR-us		X						X
BNP		X						X
Adenosina	X	X					X	

* em relação à Visita 1.

VPM: volume plaquetário médio; IPF: fração de plaquetas imaturas; IPC: contagem de plaquetas imaturas; IL-6: interleucina 6; IL-10: interleucina 10; TNF-α: fator de necrose tumoral α; PCR-us: proteína C reativa ultrassensível; BNP: peptídeo natriurético tipo B.

Quadro 2 - Algoritmo de suspensão da medicação do estudo

Critério	Valor	Conduta
Leucócitos (n°/mm ³)	≥ 3000	Manter
	< 3000	Suspender
Plaquetas (n°/mm ³)	≥ 75000	Manter
	< 75000 e/ou queda ≥ 50% em relação ao exame anterior	Suspender
Taxa de filtração glomerular (mL/min)	≥ 30	Manter
	< 30 e/ou queda ≥ 50% em relação ao exame anterior	Suspender
AST / ALT	≤ 3x LSN	Manter
	> 3x LSN	Suspender
Bilirrubinas	< 3 mg/dL	Manter
	≥ 3 mg/dL	Suspender
Hematócrito	≥ 27%	Manter
	< 27%	Suspender
Sintomas clinicamente significativos*	Não	Manter
	Sim	Suspender

* Estomatite/mucosite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse com febre ou dispneia inexplicadas. AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase; LSN: limite superior da normalidade.

Análises interinas pré-especificadas para análise de segurança foram realizadas com abertura do cegamento por um investigador independente com 20% e 50% dos participantes do estudo. Não houve análise interina pré-especificada de eficácia.

3.2 CASUÍSTICA

O cálculo amostral inicial baseou-se em VDFVE médio de $197,6 \pm 45,7$ mL, obtido por RMC, em pacientes com diagnóstico de primeiro IAMCSST de parede anterior do grupo controle do estudo METOCARD-CNIC⁵⁹. Considerando-se uma diferença de 20% (39,52 mL) no VDFVE, a favor do LDE-MTX, para um poder estatístico de 80% e alfa bicaudal de 0,05, a amostra estimada foi de 42 pacientes válidos (21 pacientes por grupo).

O remodelamento cardíaco adverso tem sido definido como um aumento de 20% no VDFVE⁶⁰ e está associado a piores desfechos clínicos⁶¹.

3.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

3.3.1 Critérios de inclusão

- Idade > 18 anos e < 75 anos;
- Pacientes com diagnóstico de primo IAMCSST de parede anterior do tipo 1 caracterizado por: sintomas isquêmicos, nova elevação do segmento ST em pelo menos 2 derivações contíguas (≥ 0.25 mV em homens com menos de 40 anos, $\geq 0,25$ em homens com < 40 anos e ≥ 0.15 mV em mulheres nas derivações V2–V3 e/ou ≥ 0.1 mV em outras derivações anteriores ou bloqueio de ramo esquerdo [BRE] novo) e marcadores de necrose miocárdica (troponina e/ou CKMB) com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência⁶².
- Submetidos à terapia de reperfusão (trombólise e/ou angioplastia).
- Cineangiocoronariografia demonstrando terapia de reperfusão bem-sucedida (fluxo Thrombolysis in Myocardial Infarction [TIMI] 3) e obstrução residual na artéria “culpada” <50%, independentemente de ter sido submetido ou não a intervenção coronária percutânea.
- Assintomáticos, sem sinais de descompensação clínica (FC < 100bpm, PAS > 90mmHg, sem medicação vasoativa ou inotrópica parenteral, oximetria de pulso > 95% em ar ambiente).
- Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

3.3.2 Critérios de exclusão

- Infarto prévio;
- Taxa de filtração glomerular estimada pelo método MDRD⁵⁷ < 40 mL/min/1.73 m²;
- Contraindicações para RMC: presença de marcapasso definitivo, desfibrilador, implante ou fragmentos metálicos cocleares, clipe metálico cerebral, claustrofobia, obesidade (acima de 150kg), impossibilidade de decúbito dorsal, incapacidade de manter 10 segundos de apneia.

- História prévia de doença crônica infecciosa (tuberculose, doença fúngica ou HIV);
- Infecção crônica por vírus da hepatite B ou C;
- História de pneumonite intersticial, bronquiectasias ou fibrose pulmonar ou radiografia de tórax dos últimos 12 meses com evidências destas afecções;
- História prévia de neoplasia maligna (não basocelular), doença mieloproliferativa ou linfoproliferativa nos últimos 5 anos;
- Contagem de leucócitos $< 4000/\text{mm}^3$, hematócrito $< 32\%$, ou contagem de plaquetas $< 75000/\text{mm}^3$;
- Alanina aminotransferase (ALT) < 2 vezes o limite superior da normalidade;
- História de abuso de álcool ou incapacidade/discordância em limitar o consumo de álcool em 4 doses por semana;
- Gestação ou lactação;
- Mulher em idade fértil, mesmo em uso de método contraceptivo;
- Homens que pretendam ter filhos no período do estudo ou que se recusem a usar método contraceptivo;
- Necessidade de uso de fármacos que alterem o metabolismo do folato (sulfametoxazol/trimetropim) ou reduzam a excreção tubular (probenecid) ou alergia conhecida a antibióticos que leve a impossibilitar o uso de trimetropim;
- Indicação atual de uso de metotrexato;
- Uso crônico de terapia com corticoide (prednisolona oral $> 5\text{mg}/\text{dia}$ ou equivalente com duração superior a 1 mês)⁶³ ou outros imunossupressores ou imunobiológicos;
- Derrame pericárdico, derrame pleural ou ascite conhecidos;
- Insuficiência cardíaca classe III-IV New York Heart Association (NYHA);
- Expectativa de vida < 1 ano;
- Qualquer condição que aumente o risco de não aderência ou perda de acompanhamento;
- Infecção ativa.

3.4 PROCEDIMENTOS

Os dados obtidos dos procedimentos nos 8 momentos previstos pelo protocolo estão sumarizados na Quadro 1 e foram compilados em formulários específicos.

Os medicamentos a seguir descritos deveriam ser evitados durante o estudo e utilizados apenas se considerados mandatórios, após avaliação cuidadosa pelo médico pesquisador: anti-inflamatórios esteroidais e não esteroidais (exceto dose baixa de até 100mg/dia de ácido acetilsalicílico); inibidores de bomba de prótons, alguns antibióticos (ciprofloxacino, penicilinas, tetraciclina ou cloranfenicol); outros medicamentos (leflunomida, azatioprina, sulfasalazina, retinoides, anestesia com óxido nítrico, amiodarona, etretinato, teofilina, triantereno), vacinas vivas atenuadas^{64,65}.

3.5 MEDICAÇÃO DO ESTUDO

a) **LDE-MTX:** a síntese de LDE-MTX foi realizada pelo Laboratório de Metabolismo e Lípidos do InCor-HCFMUSP como descrita a seguir:

- Síntese de di-dodecil metotrexato: o metotrexato (ácido) (4,0 mmol) foi diluído em 120 mL de dimetilsulfóxido. Em seguida, foram adicionados carbonato de cério (4,4 mmol) e brometo de dodecila (10,0 mmol). Após 24 horas de agitação à temperatura ambiente, foram adicionados 100 mL de água e o produto foi extraído com clorofórmio. A fase orgânica foi lavada com solução saturada de cloreto de sódio, seca com sulfato de magnésio, filtrada e evaporada⁶⁶.
- Preparo da nanopartícula lipídica e associação do di-dodecil metotrexato: a nanopartícula lipídica foi preparada a partir de uma mistura de lípides constituída por 200 mg de fosfatidilcolina, 100 mg de oleato de colesterol, 2,5 mg de colesterol livre e 5 mg de migliol⁶⁶. O metotrexato modificado como descrito anteriormente foi associado aos lípides na razão 5:1 em massa de lípide:fármaco⁴². Após a adição de 100 µL de polissorbato 80 (Tween 80®) e 10 mL de solução tampão Tris-HCl 0,01mol/L, pH 8,05, a mistura lípides foi emulsificada em homogeneizador de alta pressão (Microfluidizer®, MA, EUA). Ao término dos ciclos de homogeneização, a emulsão formada foi

centrifugada a 3700rpm, por 20 minutos e esterilizada em filtro de policarbonato 0,22µm em fluxo laminar, e armazenada em frascos estéreis a 4°C. A taxa de associação do metotrexato à nanopartícula foi determinada através de quantificação por HPLC (Shimadzu LC 10A, ML, EUA).

- Dose e intervalo: 40mg/m² intravenoso (volume total aproximado de 100mL, administrado em cerca de 0,5-1 hora), uma vez por semana, por 6 semanas.
- Local de administração: durante a internação, os pacientes receberam a medicação do estudo na unidade em que estiverem alocados. Após a alta hospitalar, os pacientes receberam a medicação no Centro de Pesquisa Clínica do Instituto do Coração da FMUSP.

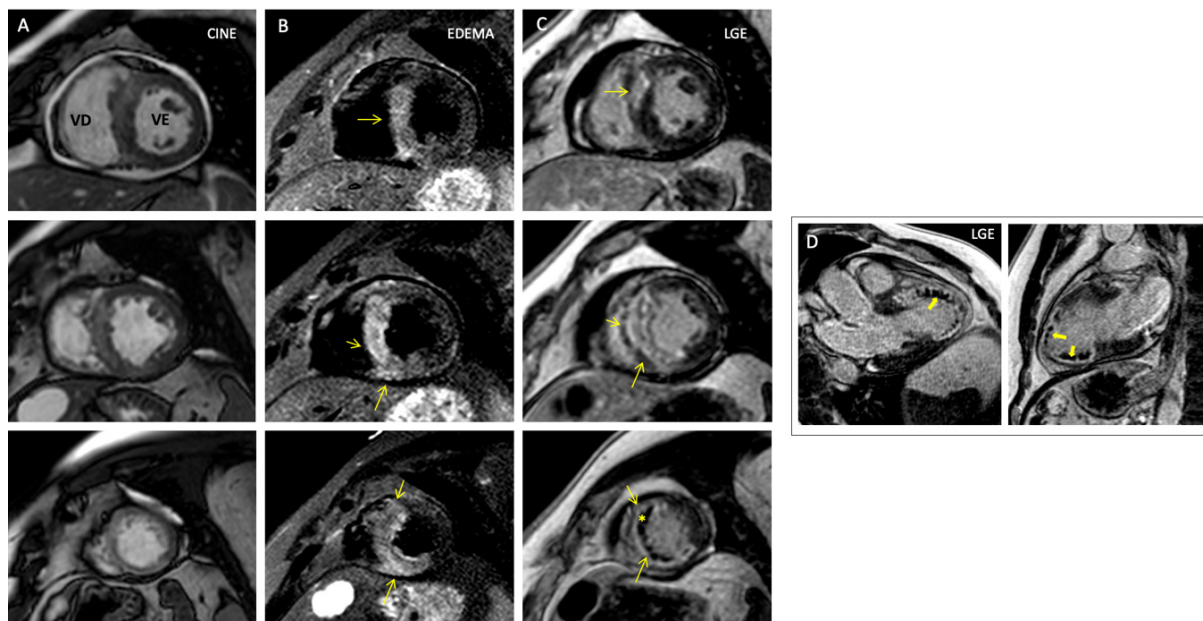
- b) LDE-Placebo**: foi administrada a partícula de LDE-placebo (LDE sem metotrexato associado) no mesmo volume e forma de administração que o LDE-MTX.
- c) Cegamento das medicações**: ambas as medicações do estudo foram armazenadas em frascos estéreis envoltos por invólucro opaco e administradas com equipo fotossensível, impossibilitando a diferenciação entre as medicações por parte dos pacientes e dos pesquisadores. Apenas as duas farmacêuticas responsáveis pela dispensação da medicação tinham ciência da randomização.

3.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA CARDÍACA (RMC)

Os estudos de RMC foram realizados 3 ± 1 dias e 90 ± 7 dias após a randomização, em equipamentos de 1,5 T (Philips Achieve, Philips Medical Systems, Best, the Netherlands ou Canon Vantage Titan, Canon Medical System Corporation, Japan). As imagens de Cine-SSFP em eixo curto (10-12 cortes) foram usadas para análise ventricular e cálculos da fração de ejeção, volumes e massa do ventrículo esquerdo. Sequências de realce precoce (2 min após injeção de gadolínio) e realce tardio (10 min após injeção do contraste e com tempo de inversão entre 250 e 350 ms) foram adquiridas nos mesmos cortes de eixo curto, com uso de 0.2 mmol/kg gadolínio (Dotarem, Guerbet, Paris, France) para avaliar obstrução microvascular (MVO) e tamanho do infarto miocárdico. Para avaliação do edema foi utilizada a sequência T2W-STIR (2SD) e para avaliação do tamanho do infarto foi utilizado o realce tardio pela técnica *full-width at half-maximum* (FWHM)^{67,68}. Área em risco é equivalente à área de edema obtida no primeiro exame, o miocárdio salvo foi obtido pela área em risco menos o realce tardio obtido no segundo exame, e o índice de miocárdio salvo foi calculado dividindo-se o miocárdio salvo pela área em risco. Todas as análises foram feitas no software CVi42 (Circle Cardiovascular Imaging; Calgary, Canadá). A análise das imagens foi realizada de forma semiautomática por investigador cego em relação à alocação dos pacientes.

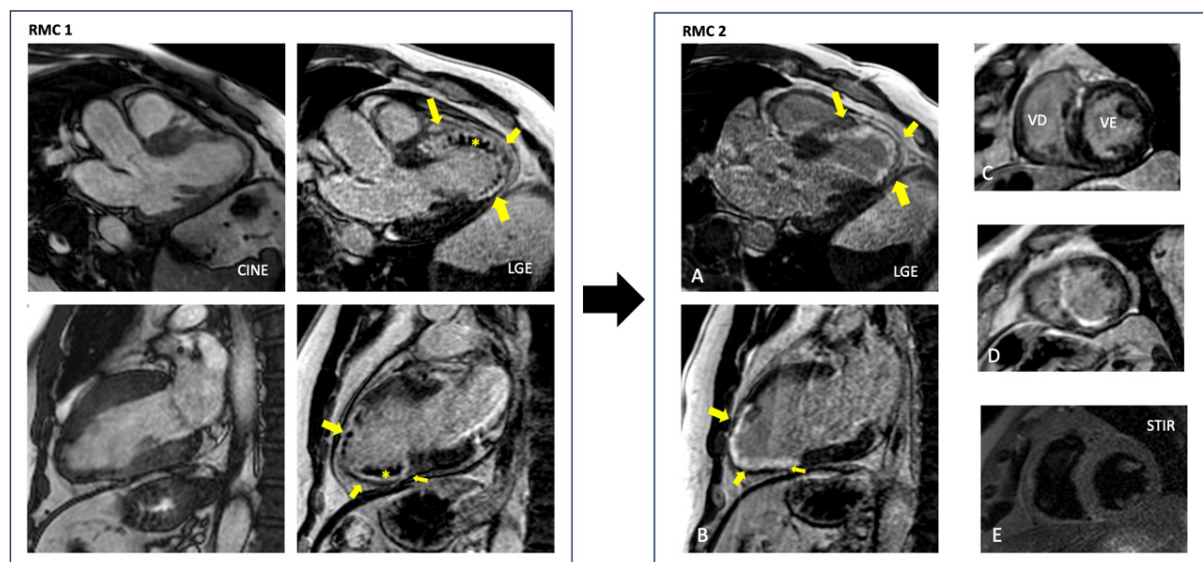
A Figura 2 exemplifica um caso de IAMCSSST de parede anterior visualizado pela RMC, evidenciando a área de infarto e a obstrução microvascular. Na sequência, a Figura 3 possibilita a visualização da evolução do infarto, com melhor definição da área do infarto, resolução do edema e da obstrução microvascular.

Figura 2 - Infarto agudo do miocárdio de parede anterior visualizado pela ressonância magnética cardíaca



Infarto agudo do miocárdio de parede anterior visualizado pela ressonância magnética cardíaca. Coluna A: Sequências cine em eixo curto. B-C: setas mostram edema em imagens T2W-STIR (B), e correlação com realce tardio (C) que mostra a localização do infarto (predominantemente septo médio-apical). Obstrução microvascular também denota infarto recente (asterisco em C e setas em D). VD: ventrículo direito; VE: ventrículo esquerdo; LGE: realce tardio.

Figura 3 - Evolução do infarto agudo do miocárdio de parede anterior visualizado pela ressonância magnética cardíaca



Imagens do infarto agudo do miocárdio de parede anterior na primeira ressonância magnética cardíaca (RMC 1) e no seguimento (RMC 2). Imagens de realce tardio (LGE) em plano eixo longo mostram LGE (setas) com obstrução microvascular (*) na RMC 1. O painel direito mostra imagens da RMC 2 (após 3 meses), com melhor visualização das bordas do infarto em plano eixo longo (A,B) e imagens de LGE em eixo curto (C,D) (segmentos septais médio-apicais, segmentos apical anterior e inferior) com ausência de obstrução microvascular. O edema também está ausente na imagem STIR (E).

3.7 COLETAS DE SANGUE

Todas as coletas sanguíneas para as dosagens laboratoriais citadas nos objetivos do estudo foram realizadas simultaneamente (com exceção da dosagem de agregabilidade plaquetária), seguindo a seguinte rotina: punção venosa a vácuo em veia periférica, com tempo de garroteamento inferior a 1 minuto. As amostras das visitas 1, 2, 7 e 8 foram, em seguida, centrifugadas e armazenadas em freezer a -80°C, e analisadas durante o estudo de acordo com as metodologias a seguir descritas. As análises de agregabilidade plaquetária foram realizadas entre 30 minutos e 3:30 horas após a coleta da amostra (realizada sem garroteamento).

3.8 METODOLOGIA DOS EXAMES LABORATORIAIS

- a) **Hemograma com contagem de plaquetas:** realizado em equipamento de automação (modelo Sysmex XN 2000); se necessário a amostra era encaminhada para reavaliação microscópica. O sistema possui dois analisadores capacitados para fazer análise quantitativa, identificação, análise percentual e sinalização por meio da impedância elétrica para eritrócitos e plaquetas, dispersão da luz do laser, citometria de fluxo por fluorescência (diferencial de leucócitos, reticulócitos e plaquetas fluorescente) e espectrofotometria utilizando laurilsulfato de sódio para hemoglobina.
- b) **Aspartato aminotransferase (AST):** a determinação quantitativa da AST foi realizada pelo método cinético automatizado. O método da aspartato aminotransferase é uma adaptação da metodologia recomendada pela International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). O ensaio foi realizado no sistema de química clínica *Dimension*[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, EUA), utilizando kit da mesma marca. O intervalo de referência para AST é de 15 a 37 U/L⁶⁹.
- c) **Alanina aminotransferase (ALT):** a determinação quantitativa da ALT foi realizada pelo método cinético automatizado. O método *Dimension*[®] ALTI é uma adaptação do procedimento de alanina aminotransferase recomendado pelo IFCC conforme descrito por Bergmeyer*. O ensaio foi realizado no sistema de química clínica *Dimension*[®] (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, EUA), utilizando kit da mesma marca. O intervalo de referência para ALT é de 12 a 78 U/L⁶⁹.

- d) Bilirrubinas:** as dosagens de bilirrubinas direta e total foram realizadas por metodologia colorimétrica através da reação com o ácido sulfanílico diazotado (expresso em mg/dL). A bilirrubina indireta é resultado da subtração da bilirrubina direta da bilirrubina total.
- e) Creatinina:** quantificada por método colorimétrico CREA, utilizado no sistema de química clínica Dimension® (Siemens Healthcare Diagnostics, Newark, EUA). O método da creatinina empregou uma modificação da reação cinética de Jaffe. A taxa de filtração glomerular foi estimada pelo método MDRD⁵⁷.
- f) Albumina:** determinada pelo método colorimétrico empregando-se púrpura de bromocresol como reagente de cor (expresso em g/dL).
- g) Fração de Plaquetas Imaturas (IPF):** utilizado método de citometria de fluxo por meio de laser semiconductor, sendo calculado um diagrama de dispersão bidimensional, representando o eixo X a intensidade da luz fluorescente lateral e o eixo Y a intensidade da luz dispersa para a frente. O IPF é obtido como uma razão entre a contagem de plaquetas na área com forte intensidade de luz no diagrama de dispersão da plaqueta fluorescente (zona IPF) e a contagem total de plaquetas.

$$\text{IPF} = \frac{\text{contagem de partículas na zona IPF}}{\text{contagem de partículas na zona de plaquetas}} \times 100$$

- h) Volume Plaquetário Médio (VPM):** a PLT (contagem de plaquetas) é calculada como uma contagem de partículas entre dois discriminadores [discriminador baixo (LD) e discriminador alto (UD)], que são configurados automaticamente nos intervalos 2 – 6 fl e 12 – 30 fl, respectivamente. Nas distribuições granulométricas PLT, verifica-se se existem anomalias, incluindo frequências relativas anômalas a nível de discriminador mais baixo, larguras de distribuição anômalas e a existência de mais de um pico. Com a altura de pico considerada como 100%, a largura de distribuição ao nível de frequência de 20% é PDW (Largura de distribuição calculada das plaquetas). A unidade utilizada é o fentolitro (fl) (1 fl = 10⁻¹⁵l). O P-LCR é o rácio de plaquetas grandes do discriminador 12fl ou maior. É calculado como um rácio que compara o número de partículas entre o discriminador

fixo e UD com o número de partículas entre LD e UD. O VPM é calculado a partir da seguinte equação (onde PCT = hematócrito plaquetário ou rácio do volume plaquetário e é ponderado para a frequência PLT):

$$\text{VPM(fl)} = \frac{\text{PCT(\%)}}{\text{PLT (x } 10^3/\text{ul)}} \times 10000$$

- i) **Multiplate® (Multiple Electrode Aggregometry - Roche):** teste que analisa a função 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 da mesma via receptores do ADP pelo ADP (ADP-Test) e pela via do ácido aracdônico (ASPI-test). Os resultados são obtidos em velocidade de agregação ou área sob a curva (AUC), e quanto maiores, maior a agregabilidade plaquetária^{70,71}.
- j) **Proteína C reativa ultrassensível (PCR-us):** para as dosagens de proteína C reativa, o sangue foi coletado em tubo com gel separador. Após formação completa do coágulo, as amostras foram centrifugadas por 15 minutos a 3000 rpm e em seguida, encaminhadas para a análise. A PCR foi quantificada por meio de anticorpos monoclonais, pelo método de imunonefelometria em equipamento automatizado BN II Systems, utilizando o kit CARDIO PHASE® hs CRP (Siemens Healthcare Diagnostics Products, Marburg, Alemanha). O intervalo de referência é de < 1,0 mg/L para avaliação de risco de doença vascular e < 5,0 mg/L para avaliação de processos inflamatórios/infecciosos.
- k) **Interleucina-6 (IL-6), Interleucina-10 (IL-10) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-α):** foram determinados por ensaio tipo enzima-imunométrico quimioluminescente, com dois sítios, desenvolvido para o uso com o analisador automatizado para a determinação quantitativa de IL-6 (expresso em pg/mL) no soro (IL-6, IL-10 e TNF-α ELISA, IBL International, Hamburg, Alemanha).
- l) **Peptídeo Natriurético Tipo B (BNP):** foi obtido por meio de um imunoensaio tipo sanduíche de duas etapas que utiliza tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. Para isso, foi utilizado o kit comercial ADVIA Centaur®

(Siemens Medical Solutions Diagnostic, Los Angeles, CA, EUA) em equipamento automatizado da mesma marca. Os resultados são apresentados em pg/mL.

- m) **Troponina I (Tnl-Ultra™)**: a determinação quantitativa de Troponina I foi obtida por meio de um imunoensaio tipo sanduíche efetuado em três etapas que utiliza tecnologia quimioluminescente direta e quantidades constantes de dois anticorpos monoclonais. Foi incluído um reagente auxiliar para reduzir a ligação não específica. Para isso, foi utilizado o kit comercial ADVIA Centaur® Tnl-Ultra (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, EUA) em equipamento automatizado da mesma marca. Resultados expressos em ng/dL.
- n) **Creatinofosfoquinase fração MB massa (CKMB massa)**: a determinação quantitativa de CKMB – massa foi obtida por meio de um imunoensaio tipo sanduíche efetuado em dois locais que recorre à tecnologia quimioluminométrica direta, a qual utiliza quantidades constantes de dois anticorpos. Para isso, foi utilizado o kit comercial ADVIA Centaur® CKMB (Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, EUA) em equipamento automatizado da mesma marca. Resultados expressos em pg/dL.
- o) **Colesterol total**: dosado por método Colorimétrico enzimático, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, EUA). Resultados expressos em mg/dL.
- p) **HDL Colesterol**: dosado por método Colorimétrico enzimático homogêneo, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, EUA). Resultados expressos em mg/dL.
- q) **LDL Colesterol**: o LDL foi estimado pela equação de Friedewald. Resultados expressos em mg/dL.
- r) **Triglicérides**: dosado por método Colorimétrico enzimático, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, EUA). Resultados expressos em mg/dL.
- s) **Hemoglobina Glicada**: dosada pelo método Imunoturbidimétrico, certificado pelo NGSP – *National Glycohemoglobin Standardization Program*, utilizando-se o kit Flex® reagente cartridge, equipamento Dimension RXL, Siemens Healthcare (Newark, EUA). Resultados expressos em percentual (%).

- t) **Adenosina:** um volume de 7,5 mL de sangue foi coletado diretamente em uma seringa heparinizada de 10 mL contendo 2,5 mL de solução fixadora com inibidores da formação da adenosina (100 $\mu\text{mol/L}$ dipiridamol e 2,5 $\mu\text{mol/L}$ EHNA). A mistura do sangue com a solução fixadora ocorreu pelo efeito de sucção durante a coleta. Imediatamente após, o sangue é centrifugado (0°C, 3.000 rpm por 20 min), o plasma foi então removido e desproteinizado por meio de nova centrifugação para massa molecular de 25.000. A concentração plasmática de adenosina foi determinada por técnica de cromatografia líquida isocrática de alta performance (HPLC). Resultados expressos na em nmol/L.

3.9 ANÁLISES ESTATÍSTICAS

Os dados estão apresentados como números absolutos e percentuais, quando variáveis categóricas, e médias ($\pm$ desvios-padrão - DP) ou medianas (percentil 25; percentil75), de acordo com a distribuição Gaussiana ou não-Gaussiana, respectivamente, quando variáveis contínuas.

As variáveis categóricas foram comparadas entre os grupos com a utilização do teste do qui-quadrado ou teste exato de Fisher quando apropriado.

As variáveis contínuas foram classificadas quanto à distribuição Gaussiana ou não-Gaussiana de acordo com o teste de Shapiro-Wilk. Algumas variáveis que não apresentaram distribuição Gaussiana foram transformadas através do logaritmo para a obtenção da normalidade.

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 foi utilizada análise de variância com medidas repetidas.

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

Foi realizada análise do tipo intenção de tratar modificada, onde somente os pacientes que completaram o seguimento com a realização das duas RMC previstas no protocolo, independente do número de doses recebidas da medicação do estudo, foram incluídos na análise do objetivo principal proposto. Não houve qualquer

difículdade técnica em relação às análises das imagens, de tal sorte que não houve dado faltante para este desfecho.

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 (Microsoft, Chicago, Illinois).

3.10 FINANCIAMENTO

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), Projetos Temáticos números 2014/03742-0; 2020/16215-0 e 2014/01021-4. Não houve qualquer participação da fonte patrocinadora no desenho, execução ou análise estatística dos resultados obtidos.

3.11 QUESTÕES ÉTICAS

Este protocolo está de acordo com as recomendações contidas na declaração de Helsink⁷² e foi registrado, juntamente com o TCLE, pela Comissão Científica do InCor sob o número SDC 4508/17/008. Face a complexidade e utilização de uma formulação ainda não estudada em pacientes com IAM, o projeto foi enviado e aprovado pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sob o registro CAAE: 68743417.5.0000.0068 (parecer consubstanciado da CONEP número 2.476.710 – Anexo A). Foram realizadas 3 emendas ao protocolo inicial, também aprovadas pela CONEP, sendo a primeira (Anexo B) com a inclusão de pesquisadora executante e copesquisadores, com ampliação das análises exploratórias. A segunda emenda (Anexo C) incluiu uma terceira análise interina não pré-especificada, com 76% da amostra válida prevista, para avaliar possível interrupção definitiva do estudo por critérios de eficácia ou futilidade devido à pausa no recrutamento secundária à pandemia causada pelo vírus SARS-CoV2 (COVID-19). A terceira e última emenda (Anexo D) se referiu a atualização das análises estatísticas. 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.

O presente estudo foi devidamente registrado no site Clinicaltrials.gov sob o número NCT03516903.

4 RESULTADOS

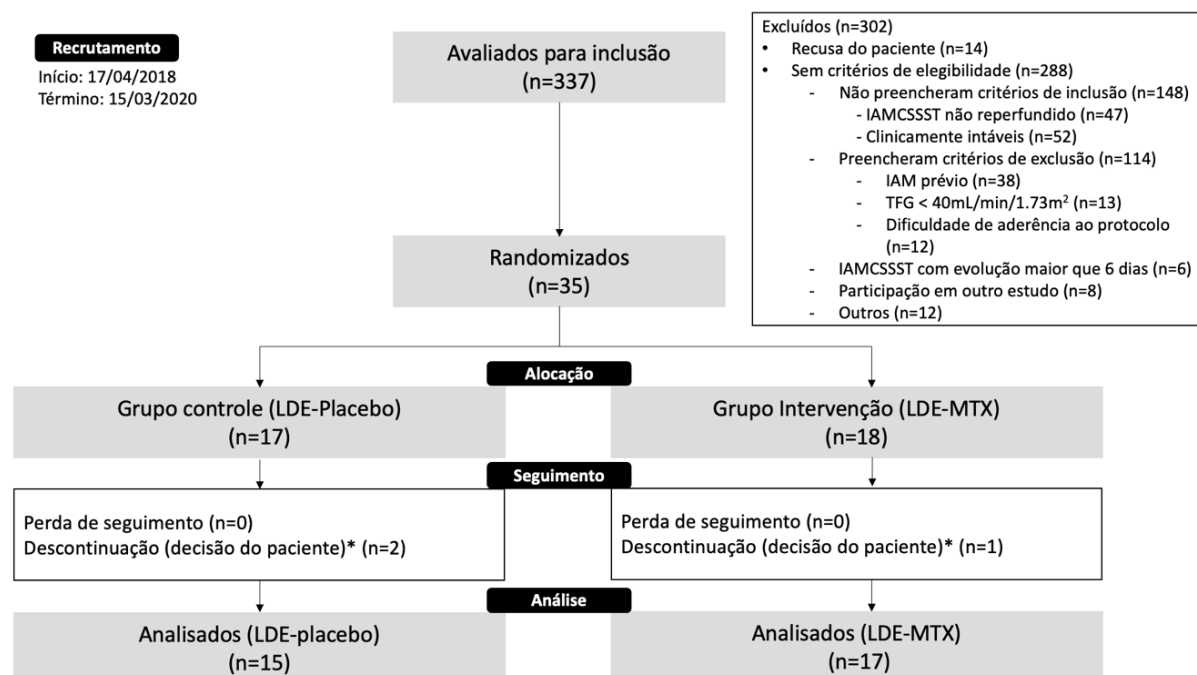
4.1 RECRUTAMENTO E FLUXO DE PARTICIPANTES

O fluxograma de recrutamento está sumarizado na Figura 4. Como se nota, entre 17 de abril de 2018 e 15 de março de 2020, foram avaliados 337 pacientes hospitalizados com diagnóstico de IAMCSSST de parede anterior. Destes, trinta e cinco foram randomizados (17 para o grupo LDE-placebo e 18 para o grupo LDE-MTX).

O início da pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2 (COVID-19), impossibilitou a continuidade do recrutamento dos pacientes devido ao uso de medicação imunossupressora (metotrexato) em pacientes de alto risco de complicações pelo COVID-19. Como referido previamente, por conta disso uma terceira análise interina não pré-especificada, com 70% dos pacientes (76% dos pacientes válidos para a análise do objetivo primário), foi realizada pelo mesmo investigador independente, que concluiu não haver motivos para modificação do protocolo ou para a interrupção do estudo. Apesar disso, por conta da manutenção da pandemia, após 9 meses de interrupção das inclusões, em dezembro de 2020, optou-se por encerrar o estudo. Essa decisão levou em conta a opinião de diversos profissionais altamente especializados, de dentro e de fora do estudo (incluindo infectologistas e epidemiologistas), que concluíram ser altamente improvável o retorno à normalidade (e, portanto, a retomada das inclusões com segurança) no curto prazo.

Como o estudo foi interrompido precocemente, antes de atingir o número de pacientes previstos pelo cálculo amostral, todas as análises estatísticas passaram a ser exploratórias, e, portanto, os resultados devem ser vistos com a devida cautela.

Figura 4 - Fluxograma do processo de recrutamento, alocação, seguimento e análise de dados [CONSORT⁷³]



*Três pacientes decidiram não continuar no estudo. Dois desses pacientes receberam 2 doses do medicamento do estudo e 1 paciente recebeu 1 dose do medicamento do estudo. Todos os 3 pacientes foram avaliados quanto ao estado vital ao final do acompanhamento e estavam vivos.

TFG: taxa de filtração glomerular; LDE: nanoemulsão lipídica; MTX: metotrexato; IAMCSSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; IAM: infarto agudo do miocárdio.

4.2 CARACTERÍSTICAS BASAIS DA POPULAÇÃO ESTUDADA

Na Tabela 1 são apresentadas as características basais da população submetida aos dois exames de RMC. Os dados relativos à população geral encontram-se no Apêndice A. Como esperado, os grupos eram bem balanceados em relação às variáveis analisadas.

Tabela 1 - Características basais da população*

Características	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)
Idade (anos)	56,53 ± 7,43	56,47 ± 8,01	56,59 ± 7,13
Sexo masculino, n (%)	27 (84,4)	13 (86,7)	14 (82,4)
Exame físico			
Frequência cardíaca (bpm)	72,16 ± 9,69	71,67 ± 10,33	72,59 ± 9,39
PAS (mmHg)	110,66 ± 13,62	112,60 ± 15,44	108,94 ± 12,00
IMC (kg/m ²)	27,38 ± 4,15	27,02 ± 4,54	27,71 ± 3,89
ASC (m ²)	1,88 ± 0,21	1,85 ± 0,19	1,90 ± 0,23
Comorbidades			
HAS - n (%)	19 (59,4)	8 (53,3)	11 (64,7)
Dislipidemia, n (%)	13 (40,6)	(7) 46,7	6 (35,3)
Diabetes Mellitus, n (%)	11 (34,4)	(5) 33,3	6 (35,3)
AVC, n (%)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
História familiar de DAC, n (%)	7 (21,9)	(3) 20,0	4 (23,5)
Obesidade, n (%)	7 (21,9)	(3) 20,0	4 (23,5)
Sedentarismo, n (%)	10 (31,3)	(3) 20,0	7 (41,2)
Tabagismo			
Atual, n (%)	11 (34,4)	(6) 40,0	5 (29,4)
Passado, n (%)	10 (31,3)	(3) 20,0	7 (41,2)
Não, n (%)	11 (34,4)	(6) 40,0	5 (29,4)
Exames laboratoriais			
Colesterol (mg/dL)	220,22 ± 47,20	234,93 ± 53,84	207,24 ± 37,39
HDL-C (mg/dL)	40,63 ± 12,15	41,40 ± 13,66	39,94 ± 11,04
LDL-C (mg/dL) ^{&}	144,91 ± 42,95	157,80 ± 55,49	133,35 ± 24,22
Triglicerídeos (mg/dL) ^{&}	188,31 ± 214,82	204,93 ± 283,98	173,65 ± 135,49
HbA1C ^{&}	6,46 ± 1,54	6,66 ± 1,92	6,30 ± 1,17
TGF (mL/min/1,73m ²)	78,22 ± 16,32	81,60 ± 19,03	75,25 ± 13,39
Troponina pico (ng/mL)	125,29 ± 168,08	136,63 ± 188,46	115,29 ± 153,08
CKMB pico (ng/mL)	203,06 ± 128,23	202,49 ± 141,13	203,56 ± 120,12
Hemoglobina (g/dL)	13,85 ± 1,48	14,11 ± 1,13	13,63 ± 1,73
Hematócrito (%)	41,00 ± 4,34	41,67 ± 3,06	40,41 ± 5,24
Leucócitos (n/mm ³)	9256,88 ± 2083,76	8635,33 ± 2092,57	9805,29 ± 1974,72
Neutrófilos (n/mm ³)	5710,53 ± 1848,32	5406,40 ± 1645,20	5978,88 ± 2021,75
Plaquetas (n/mm ³)	224406,30 ± 59413,18	222466,70 ± 33886,08	226117,60 ± 76340,42
AST (U/L) ^(&)	103,41 ± 78,52	114,80 ± 110,21	93,35 ± 33,00
ALT (U/L)	51,81 ± 17,74	47,40 ± 20,18	55,71 ± 14,80
Bilirrubinas (mg/dL) ^(&)	0,57 ± 0,22	0,53 ± 0,18	0,61 ± 0,25
Albumina (g/dL)	3,33 ± 0,33	3,27 ± 0,39	3,38 ± 0,26

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX todos não significativos.

& Variáveis analisadas após transformação logarítmica.

HAS: hipertensão arterial sistêmica; AVC: acidente vascular cerebral; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Hb1Ac: hemoglobina glicada; TFG: taxa de filtração glomerular; PCR: proteína C reativa; BNP: peptídeo natriurético tipo B; CKMB-massa: creatinoquinase MB massa; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase.

Como se nota na Tabela 2, os grupos também se mostraram bem balanceados em relação às medicações em uso por ocasião da randomização.

Tabela 2 - Medicações basais utilizadas pela população*

Medicação	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)
AAS, n (%)	32 (100)	15 (100)	17 (100)
Clopidogrel, n (%)	32 (100)	15 (100)	17 (100)
Estatina, n (%)	32 (100)	15 (100)	17 (100)
Betabloqueador, n (%)	20 (62,5)	10 (66,7)	10 (58,8)
iECA/BRA, n (%)	26 (81,3)	13 (86,7)	13 (76,5)
Espironolactona, n (%)	8 (25)	4 (26,7)	4 (23,5)
IBP, n (%)	11 (34,4)	6 (40)	5 (29,4)
Ranitidina, n (%)	21 (60)	9 (60)	12 (70,6)

Valores apresentados em número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX todos não significativos.

AAS: ácido acetilsalicílico; iECA: inibidor da enzima de conversão da angiotensina II; BRA: bloqueador do receptor de angiotensina-II; IBP: inibidor de bomba de prótons.

A Tabela 3 mostra as características do evento-índice entre os grupos. Como se nota, o uso de diferentes terapias de reperfusão, incluindo fibrinolítico, intervenção coronária percutânea primária e de resgate, foram similares entre os grupos.

Tabela 3 - Características do evento-índice na população*

Características do IAMCSSST	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)
Escores de risco			
Classificação Killip ⁷⁴			
Killip I	25 (78,1%)	11 (73,3%)	14 (82,4%)
Killip II	7 (21,9%)	4 (26,7%)	3 (17,6%)
Escore TIMI ⁷⁵	3,69 ± 1,64	4,07 ± 1,44	3,35 ± 1,77
Escore Roxana ⁷⁶	16,00 ± 5,32	16,13 ± 5,90	15,88 ± 4,92
Ecocardiograma			
FEVE (%)	43,38 ± 8,48	43,93 ± 9,18	42,88 ± 8,08
Cineangiogramografia			
Padrão das lesões coronárias			
Uniarterial, n(%)	20 (62,5%)	8 (53,3%)	12 (70,6%)
Biarterial, n(%)	7 (21,9%)	3 (20,0%)	4 (23,5%)
Triarterial, n(%)	5 (15,6%)	4 (26,7%)	1 (5,9%)
Tratamento do infarto agudo do miocárdio			
Fibrinolítico, n(%)	19 (59,4%)	10 (66,7%)	9 (52,9%)
ICP primária, n(%)	13 (40,6%)	5 (33,3%)	8 (47,1%)
ICP de resgate, n / n fibrinolítico (%)	11/19 (57,9%)	5/10 (50,0%)	6/9 (66,7%)
Tempo de isquemia (ΔT)	10,26 ± 7,7	10,93 ± 7,43	9,63 ± 8,30
Tempo UCO	5,55 ± 1,71	5,50 ± 1,83	7,76 ± 3,01
Tempo hospitalização	7,34 ± 3,06	6,87 ± 3,16	6,00 ± 6,23

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX todos não significativos.

& Variáveis analisadas após transformação logarítmica.

IAMCSSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; FEVE: fração de ejeção de ventrículo esquerdo; ICP: intervenção coronária percutânea; UCO: Unidade Coronária de Terapia Intensiva.

Na Tabela 4 estão apresentados os dados relativos ao número de doses da medicação do estudo recebidas durante o seguimento. Os motivos para a suspensão temporária ou definitiva da medicação do estudo estão no tópico relacionado a eventos adversos (item 4.5 Objetivos secundários de segurança).

Tabela 4 - Número de doses da medicação do estudo ao longo do seguimento

Número de doses	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)
6 doses, n(%)	21 (65,6%)	11 (73,3%)	10 (58,8%)
5 doses, n(%)	9 (28,1%)	3 (20,0%)	6 (35,3%)
2 doses, n(%)	2 (6,3%)	1 (6,7%)	1 (5,9%)

Valores apresentados em número (percentual).

*Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX todos não significativos.

A Tabela 5 apresenta a frequência cardíaca (FC) no momento da avaliação da ressonância magnética nos 2 grupos. Houve decréscimo significativo da FC em ambos os grupos ($p < 0,001$), sem diferença entre eles.

Tabela 5 - Frequência cardíaca no momento da ressonância magnética cardíaca

FC (bpm)	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)
3±1 dias	72,16±9,69	71,67±10,33	72,59±9,39
90±7 dias	59,63±9,11	59,80±7,81 ^a	59,47±10,37 ^a

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

^a Diferença significativa em relação a 3±1 dias ($p < 0,001$) em ambos os grupos.

4.3 OBJETIVO PRIMÁRIO

Como se pode observar na Tabela 6 e nos Gráficos 1 e 2, não houve diferença significativa entre os grupos nas medidas do VDFVE ou VDFVEi iniciais (3 ± 1 dias) ou finais (90 ± 7 dias). Houve acréscimo significativo no VDFVE e no VDFVEi quando comparadas as medidas iniciais às finais em ambos os grupos ($p < 0,001$ para VDFVE e $p = 0,002$ para VDFVEi), porém sem diferença na magnitude de variação destas medidas entre os mesmos.

Tabela 6 - Volume diastólico final do ventrículo esquerdo

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
VDFVE (mL) 3±1 dias	142,60 ± 44,70	149,89 ± 57,61	136,17 ± 29,55	0,416
VDFVE (mL) 90±7 dias	160,88 ± 51,21	163,93 ± 62,52 ^a	158,19 ± 40,55 ^a	0,408
VDFVE i (mL/m ²) 3±1 dias	75,59 ± 19,75	79,67 ± 25,73	71,99 ± 12,11	0,304
VDFVE i (mL/m ²) 90±7 dias	84,80 ± 21,80	86,92 ± 28,46 ^a	82,92 ± 14,28 ^a	0,484
ΔVDFVE (mL)	19,95 (-4,50; 41,25)	14,20 (-11,40; 30,40)	26,20 (5,25; 42,80)	0,439
Δ% VDFVE	12,43 (-3,68; 27,12)	7,08 (-7,88; 25,56)	19,76 (3,51; 31,07)	0,299
Δ VDFVE i (mL/m ²)	9,90 (-3,63; 21,03)	4,40 (-7,60; 21,20)	15,10 (3,10; 20,95)	0,509
Δ% VDFVE i	13,71 (-5,22; 28,92)	5,39 (-7,80; 23,11)	20,38 (3,91; 31,26)	0,355

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

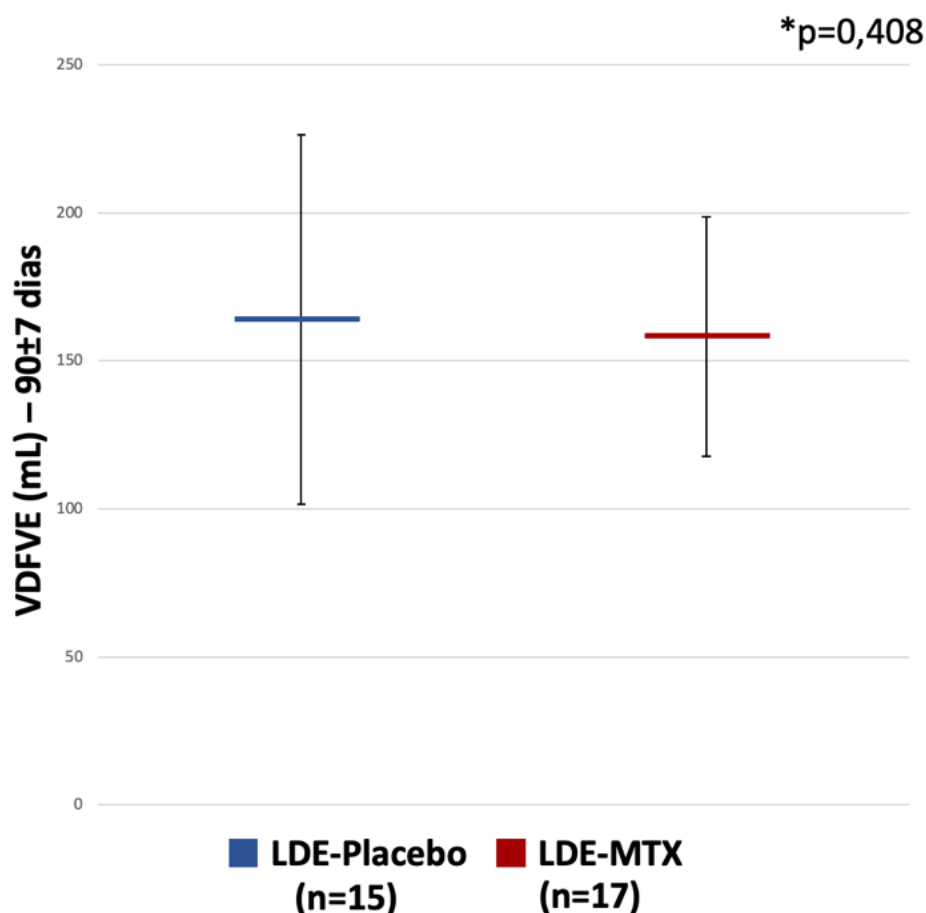
* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

^a Diferença significativa em relação a 3±1 dias (p<0,001 para VDFVE e p=0,002 para VDFVEi).

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

VDFVE: volume diastólico final do ventrículo esquerdo; i: indexado pela área de superfície corporal.

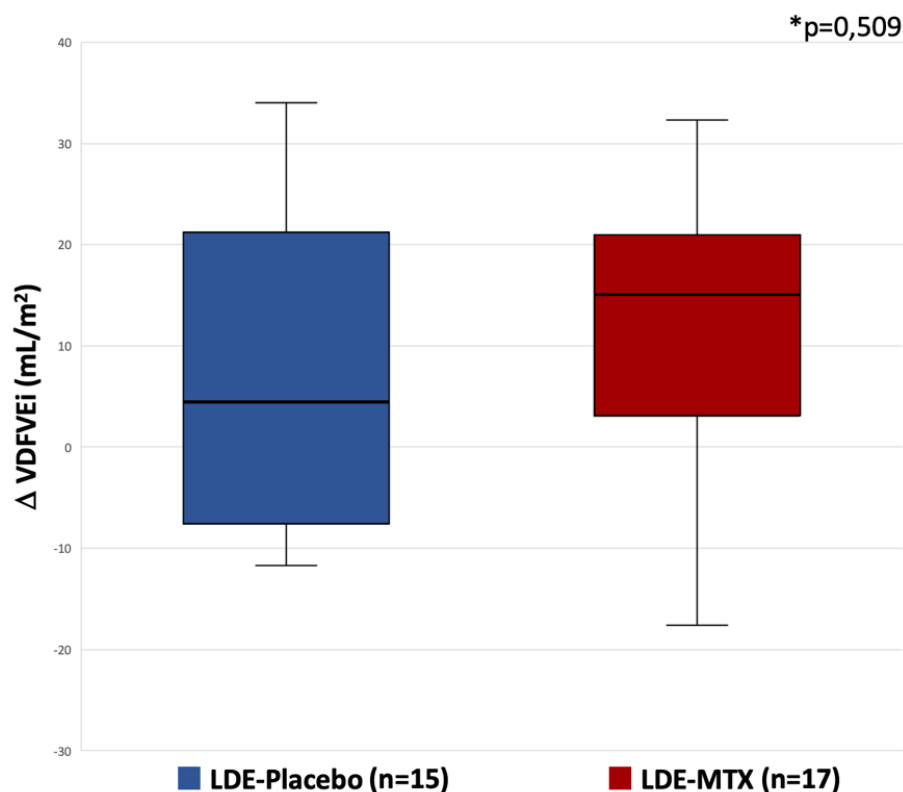
Gráfico 1 - Volume diastólico final do ventrículo esquerdo ao final do seguimento

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

VDFVE: volume diastólico final do ventrículo esquerdo.

Gráfico 2 - Diferença no volume diastólico final do ventrículo esquerdo indexado pela área de superfície corporal entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento



Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

VDFVEi: volume diastólico final do ventrículo esquerdo indexado pela área de superfície corporal.

4.4 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA

Houve redução do tamanho do infarto em ambos os grupos ($p < 0,001$), conforme apresentado na Tabela 7. Adicionalmente, a redução no grupo LDE-MTX foi significativamente maior do que o observado no grupo LDE-placebo, como demonstrado através dos deltas na Tabela 7 e salientado no Gráfico 3.

Tabela 7 - Tamanho do infarto

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Tamanho do infarto (g) 3±1 dias	37,71 ± 22,29	38,09 ± 26,43	37,37 ± 18,75	0,928
Tamanho do infarto (g) 90±7 dias	25,58 ± 14,95	27,15 ± 17,38 ^a	24,20 ± 12,82 ^a	0,552
Tamanho do infarto (%VE) 3±1 dias	25,45 ± 14,62	22,19 ± 14,24	28,33 ± 14,76	0,242
Tamanho do infarto (%VE) 90±7 dias	18,64 ± 9,26	18,26 ± 10,29 ^a	18,97 ± 8,55 ^a	0,058
Δ Tamanho do infarto (g)	-12,00 (-16,49; -6,73)	-9,89 (-15,96; -0,78)	-12,58 (-16,56; -7,61)	0,439
Δ% Tamanho do infarto	-31,23 (-41,30; -21,49)	-27,42 (-37,14; -16,94)	-37,14 (-41,68; -26,19)	0,193
Δ Tamanho do infarto (%VE)	-5,17 (-11,11; -1,58)	-2,61 (-6,46; 0,12)	-6,40 (-13,54; -3,81)	0,030
Δ% Tamanho do infarto (%VE)	-25,03 (-39,5; -10,93)	-13,35 (-28,09; 0,75)	-29,54 (-39,56; -18,77)	0,093

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

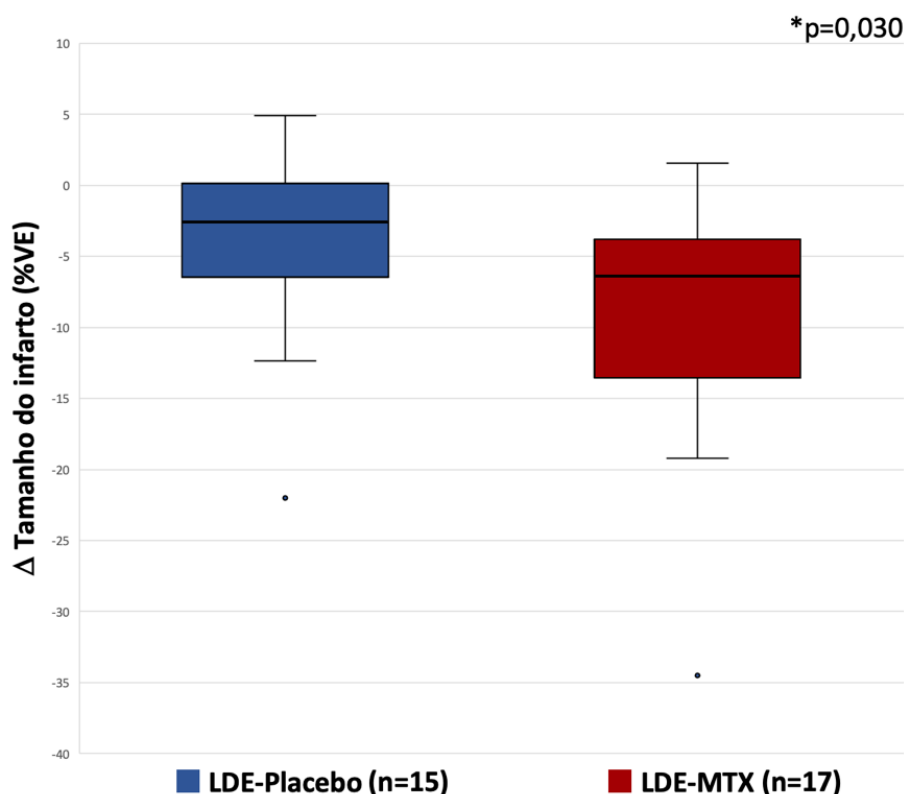
* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

^a Diferença significativa em relação a 3±1 dias (p<0,001).

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

%VE: percentual do ventrículo esquerdo.

Gráfico 3 - Diferença no tamanho do infarto entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

%VE: percentual do ventrículo esquerdo.

Quando analisada a MVE (Tabela 8), observa-se perda significativa de massa ventricular em ambos os grupos. Adicionalmente, observa-se maior diferença no grupo LDE-MTX ao se considerar os deltas indexados, como demonstrado na Tabela 8 e salientado no Gráfico 4.

Tabela 8 - Massa ventricular esquerda

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
MVE (g) 3±1 dias	150,96 ± 51,59	163,94 ± 58,42	139,51 ± 43,28	0,186
MVE (g) 90±7 dias	135,26 ± 45,94	142,90 ± 54,82 ^a	128,52 ± 36,82 ^a	0,174
MVEi (g/m ²) 3±1 dias	80,75 ± 22,80	88,59 ± 24,97	73,84 ± 18,79	0,067
MVEi (g/m ²) 90±7 dias	71,52 ± 19,76	75,69 ± 24,51 ^a	67,84 ± 14,15 ^a	0,082
Δ MVE (g)	-16,12 (-24,45; -4,50)	-16,04 (-31,00; -6,40)	-16,20 (-20,80; -2,30)	0,326
Δ% MVE	-11,06 (-18,05; -3,07)	-12,51 (-22,85; -4,14)	-9,66 (-11,83; -2,11)	0,193
Δ MVEi (g/m ²)	-8,95 (-13,60; -3,95)	-11,70 (-17,80; -7,60)	-6,60 (-12,20; -1,05)	0,040
Δ% MVEi	-11,95 (-17,59; -5,98)	-14,56 (-21,91; -9,36)	-8,64 (-15,09; -1,45)	0,052

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

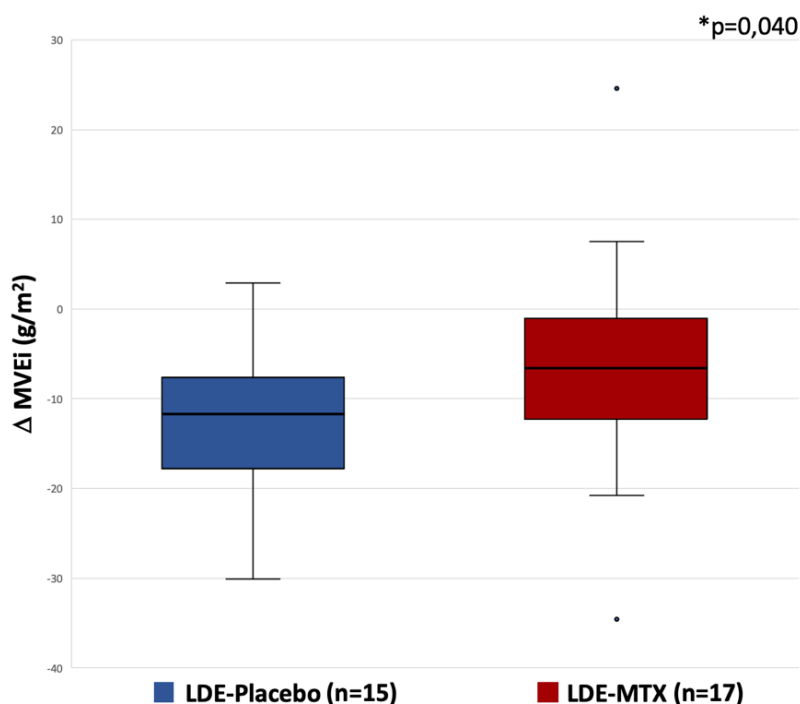
^a Diferença significativa em relação a 3±1 dias (p<0,001).

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

MVE: massa do ventrículo esquerdo; i: indexado pela área de superfície corporal.

Gráfico 4 - Diferença na massa ventricular esquerda indexada pela área de superfície corporal entre 90±7 dias e 3±1 dias de seguimento



Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: Variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

MVEi: massa do ventrículo esquerdo indexada pela área de superfície corporal.

Com relação ao VSFVE e à FEVE, pode-se observar nas Tabelas 9 e 10, respectivamente, que não houve diferenças significativas entre os grupos nas comparações das medidas iniciais e finais, e tampouco na magnitude de suas variações.

Tabela 9 - Volume sistólico final do ventrículo esquerdo

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
VSFVE (mm) 3±1 dias	75,28 ± 30,62	78,65 ± 40,73	72,31 ± 18,58	0,586
VSFVE (mm) 90±7 dias	81,35 ± 36,89	79,95 ± 44,50	82,59 ± 30,00	0,225
VSFVE i (mm/m ²) 3±1 dias	39,76 ± 14,39	41,46 ± 19,14	38,25 ± 8,71	0,557
VSFVE i (mm/m ²) 90±7 dias	42,43 ± 17,14	42,08 ± 21,75	42,73 ± 12,45	0,340
Δ VSFVE (mm)	3,60 (-9,90; 25,00)	-5,60 (-16,30; 22,40)	14,90 (-6,70; 28,00)	0,180
Δ% VSFVE	10,79 (-17,06; 33,79)	-5,54 (-17,50; 19,34)	25,82 (-7,68; 38,28)	0,193
Δ VSFVE i (mm)	1,70 (-5,75; 14,00)	-3,10 (-8,50; 10,80)	7,90 (-5,50; 15,80)	0,396
Δ% VSFVE i	8,73 (-17,17; 32,19)	-5,85 (-17,04; 20,73)	25,82 (-17,30; 41,04)	0,234

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

VSFVD: volume sistólico final do ventrículo esquerdo; i: indexado pela área de superfície corporal.

Tabela 10 - Fração de ejeção do ventrículo esquerdo

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
FEVE (%) 3±1 dias	48,29 ± 9,49	49,79 ± 11,32	46,97 ± 7,64	0,411
FEVE (%) 90±7 dias	51,12 ± 9,31	53,63 ± 11,17 ^(a)	48,91 ± 6,92 ^(a)	0,219
Δ FEVE (%)	3,55 (-2,05; 7,85)	3,80 (0,30; 7,10)	1,30 (-4,10; 8,80)	0,521
Δ% FEVE	7,79 (-4,73; 18,91)	9,37 (0,58; 18,18)	3,26 (-10,00; 19,64)	0,533

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

^a Diferença significativa em relação a 3±1 dias (p=0,048).

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo.

Em relação aos parâmetros de remodelamento (Tabela 11), não houve diferença entre os grupos no percentual de pacientes que apresentaram remodelamento adverso e reverso.

Tabela 11 - Remodelamento adverso e reverso ao final do seguimento

	Total (n=35)	LDE-Placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)	p*
Remodelamento Adverso	12 (37,5)	4 (26,7)	8 (47,1)	0,234
Remodelamento Reverso	15 (46,9)	8 (53,3)	7 (41,2)	0,492
Remodelamento Adverso ^a	14 (43,8)	5 (33,3)	9 (52,9)	0,265
Remodelamento Reverso ^b	17 (53,1)	10 (66,7)	7 (41,2)	0,149

Valores apresentados em número (percentual).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

^a Considerando o volume diastólico final do ventrículo indexado pela área de superfície corporal.

^b Considerando o volume sistólico final do ventrículo indexado pela área de superfície corporal.

4.5 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA

As análises interinas pré-especificadas de segurança realizadas com 20% e 50% dos participantes do estudo foram analisadas por um investigador independente e em ambas as análises foi recomendada a continuação do estudo conforme previsto no protocolo. Os relatórios recebidos pela coordenação do estudo foram devidamente enviados ao Comitê de Ética em Pesquisa e aprovados.

Na análise dos sintomas considerados clinicamente significativos pelo protocolo do estudo (Tabela 12), nota-se que os grupos não apresentaram diferenças nas respectivas incidências.

Tabela 12 - Sintomas clinicamente significativos ao longo do seguimento*

Sintomas clinicamente significativos	Total (n=35)	LDE-Placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Estomatite	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Vômito	2 (5,7%)	1 (5,9%)	1 (5,6%)
Diarreia	5 (14,3%)	3 (17,7%)	2 (11,1%)
Tosse e febre sem causa determinada	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Dispneia	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Valores apresentados em número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

Como se observa na Tabela 13, tampouco diferenças significativas foram observadas nas incidências de eventos adversos sérios (EAS) entre os grupos. Houve 4 EAS no grupo LDE-Placebo e 4 EAS no grupo LDE-MTX. Os 8 eventos estão descritos de forma resumida na sequência:

- Infarto agudo do miocárdio sem supradesnível do segmento ST (IAMSSST): paciente hospitalizado por IAMSSST, 40 dias após a alta hospitalar do evento índice, submetido à angioplastia coronária e ajuste da terapia medicamentosa, com evolução favorável - grupo LDE-placebo.

- Trombo em ventrículo esquerdo (TVE): dois pacientes apresentavam TVE quando do primeiro estudo de RMC (3 ± 1 dias), levando a prolongamento dos seus tempos de hospitalização devido à necessidade de anticoagulação. Em ambos os casos não mais foi visualizado trombo quando da RMC de controle (90 ± 7 dias) – ambos grupo LDE-MTX. Houve um caso de TVE no grupo LDE-Placebo, mas optado pela equipe da Unidade Coronariana por não anticoagular, devido às características do trombo.
- IAMCSSST: um único paciente apresentou dor torácica e alteração eletrocardiográfica (supradesnível do segmento ST de parede anterior) no quinto dia após o evento índice, sendo submetido a nova cinecoronariografia que demonstrou artéria descendente anterior aberta e stent pérvio, tendo sido suspeitado de vasoespasma coronariano. Mantido em tratamento clínico, com resolução do quadro e boa evolução clínica – grupo LDE-MTX.
- Angina instável: Um caso ocorrido 15 dias após a alta do evento índice. Foi hospitalizado e optado por estratificação não invasiva, sem evidência de isquemia, sendo ajustada a terapia medicamentosa, com o paciente apresentando boa evolução clínica – grupo LDE-MTX.
- Farmacodermia: um paciente apresentou quadro de farmacodermia sendo hospitalizado e avaliado por equipes de dermatologia e reumatologia, optando-se por suspender definitivamente a medicação do estudo e pela troca de enalapril por losartana. O paciente apresentou recuperação completa, sem sequelas – grupo LDE-placebo.
- Insuficiência cardíaca descompensada: um paciente apresentou sintomas de IC descompensada e necessitou nova hospitalização, tendo evolução favorável e recebendo alta com orientação de seguimento também no grupo de valvopatias por conta de uma insuficiência aórtica que eventualmente deverá ser tratada de forma invasiva - grupo LDE-Placebo.
- Lipotímia: um paciente apresentou lipotímia com queda da própria altura e traumatismo cranioencefálico leve. Optado por hospitalização com realização de investigação complementar, sendo evidenciada hipotensão postural. Ajustada terapia medicamentosa, apresentou evolução favorável e recebeu alta sem sequelas - grupo LDE-placebo.

Tabela 13 - Eventos adversos sérios ao longo do seguimento

	Total (n=35)	LDE-Placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Eventos adversos sérios	8 (22,9%)	4 (23,5%)	4 (22,2%)
Morte	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
IAM	2 (5,7%)	1 (5,9%)	1 (5,6%)
AVC	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Hospitalização por IC	1 (2,9%)	1 (5,9%)	0 (0,0%)
Angina Instável	1 (2,9%)	0 (0,0%)	1 (5,6%)
Trombo de VE [#]	2 (5,7%)	0 (0,0%)	2 (11,1%)
Síncope	1 (2,9%)	1 (5,9%)	0 (0,0%)
Farmacodermia ^{&}	1 (2,9%)	1 (5,9%)	0 (0,0%)

Valores apresentados em número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

[#] Levando à extensão da hospitalização devido à necessidade de anticoagulação. Houve outro paciente com trombo no VE no grupo LDE-placebo, mas a anticoagulação não foi indicada pela equipe da unidade de cuidados coronarianos.

[&] Levando à hospitalização, com resolução após a descontinuação do medicamento do estudo e substituição do enalapril por losartana.

IAM: infarto agudo do miocárdio; AVC: acidente vascular cerebral; IC: insuficiência cardíaca, VE: ventrículo esquerdo.

Adicionalmente, houve 10 casos de quadros infecciosos classificados como não sérios, tratados ambulatorialmente, sendo 4 no grupo LDE-placebo e cinco no grupo LDE-MTX ($p=1.000$). Destes 10 casos, cinco foram de infecção de via aérea superior, um traqueobronquite, um de infecção urinária não complicada (cistite) e um de gastroenterite. Também houve um caso de suspensão da medicação do estudo devido a quadro de turvação visual, que foi investigada com avaliação oftalmológica, tendo sido concluído que o quadro seria secundário à retinopatia diabética pelo paciente.

Conforme demonstrado na Tabela 14, a incidência de alterações laboratoriais significativas, avaliadas conforme descrito no Quadro 2 (ver métodos) foi semelhante entre os grupos. Um paciente no grupo LDE-MTX apresentou alteração significativa isolada de ALT, ocasionando pausa temporária na medicação, que foi retomada na sequência, sem que houvesse qualquer alteração laboratorial significativa no seguimento.

Tabela 14 - Alterações laboratoriais significativas ao longo do seguimento* (ver métodos, Quadro 2)

Alterações laboratoriais significativas	Total (n=35)	LDE-placebo (n=17)	LDE-ddMTX (n=18)
Hematológicas	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
Hepáticas	1 (2,9%)	0 (0,0%)	1 (5,6%)
Renais	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)

Valores são número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

O Apêndice A apresenta os dados relativos aos parâmetros laboratoriais hematológicos, hepáticos e renais ao longo do tempo. Como se nota, não foram observadas diferenças significativas entre os grupos.

4.6 OUTROS OBJETIVOS SECUNDÁRIOS EXPLORATÓRIOS

Pode-se observar que não houve diferença entre os grupos em relação à variação ocorrida nos parâmetros relacionados à inflamação (Tabela 15), agregabilidade plaquetária (Tabela 16), BNP (Tabela 17), perfil lipídico e perfil glicêmico (Tabela 18).

Tabela 15 - Parâmetros de inflamação

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Δ PCR-us (mg/L)	-8,87 (-21,02; -3,31)	-8,20 (-20,90; -3,10)	-11,85 (-29,29; -2,94)	0,558
Δ% PCR-us	-90,87 (-97,17; -75,30)	-89,87 (-96,04; -72,09)	-91,15 (-98,46; -80,86)	0,265
Δ IL-6 (pg/dL)	-0,21 (-0,60; 0,00)	-0,21 (-0,38; 0,02)	-0,21 (-2,85; -0,02)	0,473
Δ% IL-6	-52,94 (-97,87; -24,79)	-28,49 (-85,07; -8,69)	-88,27 (-99,82; -32,44)	0,186
Δ IL-10 (pg/dL)	-0,05 (-0,41; 0,16)	0,04 (-0,36; 0,22)	-0,14 (-0,50; 0,12)	0,533
Δ% IL-10	-5,57 (-24,89; 9,59)	2,78 (-23,84; 16,17)	-11,02 (-28,27; 8,30)	0,558
Δ TNFα (pg/dL)	0,09 (-0,87; 1,68)	-0,40 (-0,92; 1,69)	0,19 (-0,75; 1,58)	0,806
Δ% TNFα	5,88 (-31,05; 165,03)	-9,15 (-27,33; 183,83)	16,71 (-34,09; 30,41)	0,692

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

PCR-us: proteína C reativa ultrasensível; IL-6: interleucina- 6; IL-10: interleucina 10; TNFα: fator de necrose tumoral α.

Tabela 16 - Agregabilidade plaquetária

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Δ Multiplate ADP (AUC)	-8,50 (-18,00; 13,00)	-4,50 (-17,00; 13,00)	-9,00 (-19,50; 5,00)	0,454
Δ% Multiplate ADP	-14,11 (-36,00; 35,38)	-9,38 (-36,96; 36,84)	-20,47 (-35,50; 16,63)	0,561
Δ VPM (fl)	-0,10 (-0,35; 0,25)	-0,30 (-0,50; 0,20)	-0,10 (-0,20; 0,43)	0,255
Δ% VPM	-0,94 (-3,73; 2,09)	-2,40 (-5,05; 1,71)	-0,93 (-1,83; 2,91)	0,242
Δ IPF (pg/dL)	-0,60 (-1,10; -0,10)	-1,05 (-1,90; -0,20)	-0,40 (-0,90; 0,40)	0,067
Δ% IPF	-14,06 (-28,17; -2,20)	-21,72 (-31,43; -5,13)	-7,84 (-24,32; 9,52)	0,142

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Multiplate ADP: agregabilidade plaquetária avaliada pela via do ADP (método Multiplate®); VPM: volume plaquetário médio; IPF: fração de plaquetas imaturas.

Tabela 17 - Peptídeo natriurético tipo B

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Δ BNP (pg/dL)	-56,50 (-142,75; -6,00)	-36,50 (-121,00; -6,75)	-69,00 (-151,25; -3,00)	0,868
Δ% BNP	-45,67 (-63,18; -12,87)	-36,84 (-58,62; -15,11)	-48,60 (-74,30; -7,93)	0,480

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX, teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

BNP: peptídeo natriurético tipo B.

Tabela 18 - Perfil lipídico e glicêmico

	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Δ Colesterol total (mg/dL)	-89,50 (-104,50; -54,50)	-98,00 (-114,00; -85,00)	-76,00 (-95,00; -44,00)	0,054
Δ% Colesterol total	-41,45 (-47,54; -27,48)	-43,15 (-53,50; -35,39)	-38,12 (-44,33; -16,61)	0,156
Δ HDL (mg/dL)	-0,50 (-8,00; 3,50)	1,00 (-7,00; 5,00)	-1,00 (-8,00; 2,00)	0,571
Δ% HDL	-1,04 (-18,82; 8,72)	2,27 (-20,00; 13,51)	-2,27 (-17,39; 7,41)	0,610
Δ LDL (mg/dL)	-70,00 (-90,50; -49,00)	-78,00 (-96,00; -59,00)	-63,00 (-83,00; -41,00)	0,070
Δ% LDL	-51,79 (-58,28; -33,06)	-52,27 (-63,59; -41,51)	-48,46 (-58,04; -28,85)	0,375
Δ Triglicerídeos (mg/dL)	-26,00 (-84,00; -7,50)	-47,00 (-79,00; -20,00)	-14,00 (-116,00; -2,00)	0,345
Δ% Triglicerídeos	-27,27 (-53,72; -4,99)	-44,03 (-58,96; -21,28)	-17,46 (-46,76; 1,61)	0,117
Δ HbA1c (%)	0,00 (-0,30; 0,20)	0,15 (-0,50; 0,30)	-0,10 (-0,30; 0,00)	0,139
Δ% HbA1c	0,00 (-5,08; 3,57)	2,75 (-6,02; 5,45)	-1,79 (-4,92; 0,00)	0,120

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

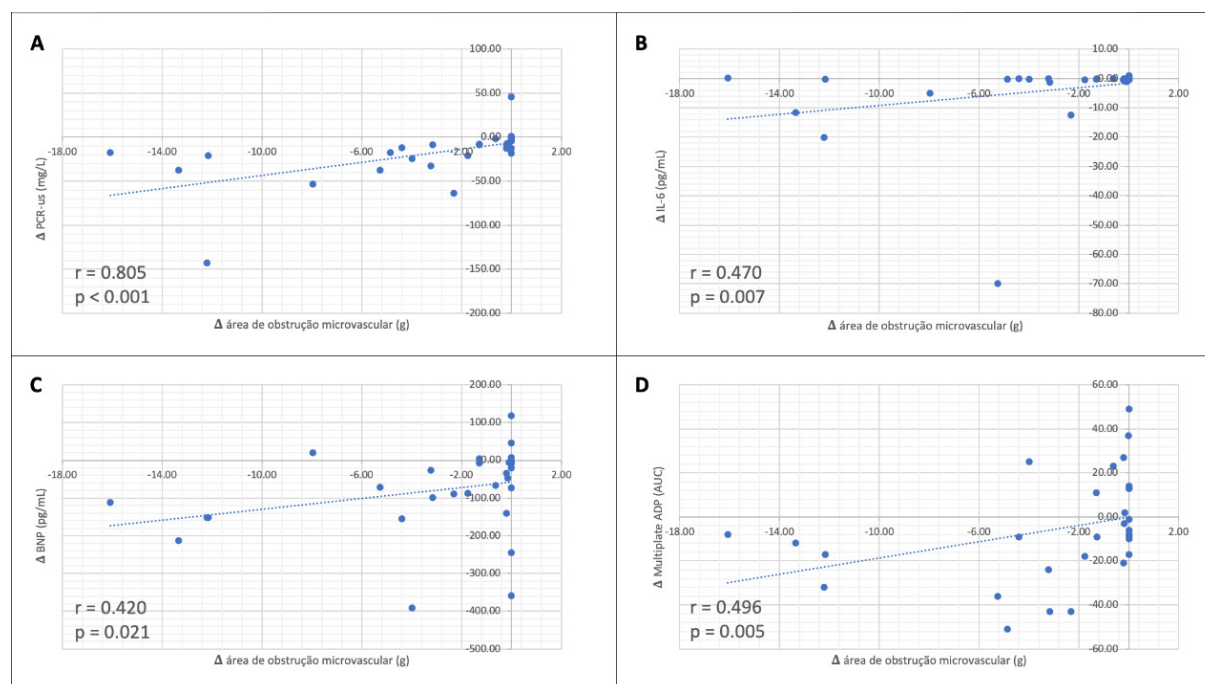
Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

HDL: *high-density lipoprotein*; LDL: *low-density lipoprotein*; HbA1C: hemoglobina glicada.

Houve muito forte correlação entre a variação dos níveis de PCR-us e a variação na área de obstrução microvascular ao longo do seguimento na população analisada ($r=0,805$; $p<0,001$ - Gráfico 5). Além disso, houve correlação moderada

entre a variação dos níveis de IL-6, BNP ($r=0,420$; $p=0,021$) e agregabilidade plaquetária avaliada pela via do ADP ($r=0,496$; $p=0,005$) e variação na área de obstrução microvascular ao longo do seguimento na população analisada (Gráfico 5).

Gráfico 5 - Correlação entre marcadores inflamatórios, BNP e agregabilidade plaquetária e área de obstrução microvascular na população analisada (n=32)



r: coeficiente de correlação de Spearman.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90 ± 7 dias e 3 ± 1 dias após a randomização.

PCR-us: proteína C reativa ultrasensível; IL-6: interleucina 6; BNP: peptídeo natriurético tipo B; Multiplate ADP: agregabilidade plaquetária avaliada pela via do ADP (método Multiplate®).

A análise dos níveis plasmáticos de adenosina antes da primeira dose da medicação do estudo, três dias após a primeira dose e após a última dose da medicação do estudo são apresentadas nas Tabelas 19 e 20. Como se nota, não houve diferença no comportamento desta variável entre os grupos.

Tabela 19 - Adenosina[&], segundo o momento e o grupo de estudo

Visita	Total (n=15)	LDE-placebo (n=7)	LDE-MTX (n=8)	p*
1	80,67 ± 33,51	93,71 ± 36,16	69,25 ± 28,39	0,491
2	85,87 ± 31,89	86,43 ± 31,71	85,38 ± 34,22	
7	96,80 ± 62,16	91,57 ± 52,43	101,38 ± 72,93	

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

& Variável analisada através da transformação logarítmica e apresentada em nmol/L.

Visita 1: antes da primeira dose da medicação do estudo.

Visita 2: 2 a 4 dias após a primeira dose da medicação do estudo.

Visita 7: após a última dose da medicação do estudo.

Tabela 20 - Variação dos níveis de adenosina (nmol/L) ao longo do seguimento

Intervalo entre Visitas	Total (n=15)	LDE-placebo (n=7)	LDE-MTX (n=8)	p*
1-2				
Δ	15,00 (0,00; 23,00)	6,00 (-41,00; 20,00)	16,00 (1,00; 26,75)	0,281
Δ%	14,85 (0,00; 29,85)	5,45 (-30,83; 29,85)	20,63 (2,72; 31,59)	0,463
1-7				
Δ	25,00 (-16,00; 33,00)	28,00 (-50,00; 33,00)	18,00 (-9,50; 60,25)	0,694
Δ%	41,82 (-15,84; 55,00)	23,31(-46,73; 49,25)	49,07 (-9,86; 74,96)	0,336
2-7				
Δ	10,00 (-31,00; 40,00)	1,00 (-31,00; 40,00)	10,50 (-30,50; 38,25)	0,867
Δ%	14,86 (-26,72; 46,15)	1,92 (-26,72; 34,48)	26,13 (-26,09; 47,25)	0,613

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Visita 1: antes da primeira dose da medicação do estudo.

Visita 2: 2 a 4 dias após a primeira dose da medicação do estudo.

Visita 7: após a última dose da medicação do estudo.

Δ: variação entre as visitas.

Δ%: variação percentual entre as visitas.

4.7 ANÁLISES POST-HOC

Analizando a população “per-protocol”, considerando apenas os pacientes que receberam as 6 doses da medicação do estudo previstas pelo protocolo, mantem-se a maior redução do tamanho do infarto (% do VE) no grupo LDE-MTX (Tabela 21). Também se mantém uma menor perda de MVE indexada pela área de superfície corporal no grupo LDE-MTX em comparação ao grupo LDE-placebo (Tabela 21).

Tabela 21 - Medidas relacionadas ao ventrículo esquerdo – análise “per-protocol” (apenas pacientes que receberam 6 doses da medicação do estudo)

	Total (n=21)	LDE-Placebo (n=11)	LDE-MTX (n=10)	p*
VDFVEi (mL/m²)				
3±1 dias	77,20 ± 22,02	79,99 ± 29,72	74,12 ± 8,75	0,543
90±7 dias	85,09 ± 25,50	90,23 ± 32,48 ^a	79,43 ± 14,32 ^a	0,422
Δ VDFVEi	7,60 (-2,55; 19,45)	9,20 (-4,70; 22,60)	6,15 (-1,83; 15,78)	0,526
Δ% VDFVEi	10,76 (-3,62; 23,79)	14,32 (-6,82; 30,28)	8,67 (-2,15; 21,66)	0,622
VSFVEi (mm)				
3±1 dias	40,01 ± 16,35	41,08 ± 21,86	38,83 ± 7,74	0,755
90±7 dias	42,54 ± 19,45	44,15 ± 24,61	40,77 ± 12,71	0,818
Δ VSFVEi	-1,70 (-5,75; 15,20)	1,60 (-5,13; 14,60)	-3,15 (-6,80; 15,85)	0,622
Δ% VSFVEi	-5,01 (-17,17; 32,19)	7,88 (-16,57; 23,70)	-7,40 (-17,53; 37,60)	0,833
FEVE (%)				
3±1 dias	49,34 ± 10,62	51,05 ± 12,36	47,46 ± 8,56	0,454
90±7 dias	51,25 ± 9,66	53,63 ± 11,36	48,65 ± 7,03	0,716
Δ FEVE	3,30 (-5,40; 7,85)	3,30 (-2,80; 7,10)	2,85 (-10,55; 10,95)	0,698
Δ% FEVE	6,21 (-9,66; 19,26)	6,21 (-6,18; 18,18)	6,09 (-18,73; 26,07)	0,725
Tamanho do Infarto (%VE)				
3±1 dias	24,42 ± 13,56	21,07 ± 13,88	28,10 ± 12,86	0,245
90±7 dias	18,96 ± 10,12	18,36 ± 11,50	19,62 ± 8,92 ^b	0,028
Δ Tamanho do Infarto	-3,86 (-8,89; -1,51)	-1,54 (-5,49; 0,12)	-6,39 (-14,08; -3,71)	0,024
Δ% Tamanho do Infarto	-24,54 (-39,35; -10,14)	-13,35 (-28,09; 0,75)	-28,66 (-40,92; -19,88)	0,121
MVEi (g/m²)				
3±1 dias	81,99 ± 23,35	89,17 ± 27,66	74,08 ± 15,13	0,143
90±7 dias	71,31 ± 21,11	77,03 ± 27,56 ^c	65,03 ± 7,89 ^c	0,531
Δ MVEi	-11,50 (-15,35; -3,10)	-11,70 (-17,00; -4,30)	-9,00 (-15,33; 0,80)	0,398
Δ% MVEi	-13,34 (-20,44; -4,58)	-14,56 (-21,91; -6,01)	-10,68 (-20,85; 1,19)	0,481

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

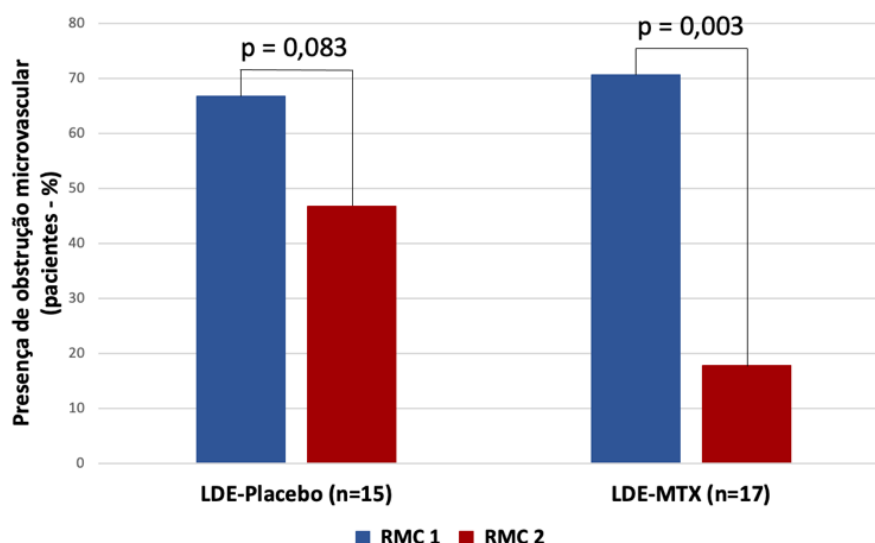
Diferença significativa em relação a 3±1 dias: ^ap=0.018; ^bp=0.001; ^cp<0.001.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

VDFVi: volume diastólico final do ventrículo esquerdo indexado pela área de superfície corporal; VSFVi: volume sistólico final do ventrículo esquerdo indexado pela área de superfície corporal; FEVE: fração de ejeção do ventrículo esquerdo; VE: ventrículo esquerdo; MVEi: massa ventricular esquerda indexada pela área de superfície corporal.

O grupo LDE-MTX teve uma diminuição significativa da obstrução microvascular (p=0,003) durante o seguimento, com uma tendência para maior redução aos 90±7 dias para o grupo LDE-MTX (52,9%) em comparação com o grupo LDE-placebo (20%) (p=0,054) (Gráfico 6).

Gráfico 6 - Presença de obstrução microvascular

RMC 1: 3±1 dias após a randomização; RMC 2: 90±7 dias após a randomização.

Ambos os grupos apresentaram melhora significativa do edema na segunda RMC quando comparado com o primeiro exame. Não houve diferença na área de edema entre os grupos ao longo do seguimento, tampouco na variação da área de edema (Tabela 22).

Tabela 22 - Avaliação de área de edema

Edema (g)	Total (n=32)	LDE-Placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
3±1 dias	54,70 (45,43; 70,73)	61,10 (43,60; 83,80)	52,10 (45,75; 69,15)	0,462
90±7 dias	0,00 (0,00; 0,00)	0,00 (0,00; 0,00) ^a	0,00 (0,00; 0,00) ^b	0,692
Δ Edema	-54,70 (-70,73; -42,25)	-61,10 (-72,60; -29,30)	-52,10 (-69,15; -43,20)	0,602
Δ% Edema	-100,00 (-100,00; -100,00)	-100,00 (-100,00; -100,00)	-100,00 (-100,00; -100,00)	0,551

Valores apresentados em mediana (percentil 25; percentil 75).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

Diferença significativa em relação a 3±1 dias: ^ap=0.001; ^bp<0.001.

Δ: variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

Δ%: percentual de variação entre as medidas realizadas em 90±7 dias e 3±1 dias após a randomização.

A avaliação de área de miocárdio salvo e índice de miocárdio salvo também não demonstrou diferenças significativas entre os grupos LDE-MTX e LDE-placebo (Tabela 23).

Tabela 23 - Avaliação de área de miocárdio salvo

	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Miocárdio Salvo (g)	31,085 ± 10,12	32,60 ± 11,03	31,18 ± 9,53	0,699
Índice de Miocárdio Salvo	0,58 ± 0,16	0,59 ± 0,17	0,58 ± 0,16	0,868

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* Valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX.

5 DISCUSSÃO

5.1 OBJETIVO PRIMÁRIO

O presente estudo demonstrou que, em pacientes com primo IAMCSSST de parede anterior, o tratamento com LDE-MTX (40mg/m², semanalmente por 6 semanas) não resultou em redução no VDFVE em relação ao grupo LDE-placebo após 3 meses de seguimento.

O aumento do VDFVE em ambos os grupos no período de seguimento pode ser explicado, ao menos em parte, pelo fato de que as análises das imagens da segunda RMC ocorreram com os pacientes apresentando frequência cardíaca mais controlada em relação ao primeiro exame devido ao uso otimizado de betabloqueador, o que leva a maior tempo de relaxamento do VE, com consequente maior volume diastólico, conforme já observado em estudos prévios^{77,78}.

Deve-se considerar também que a amostra deste estudo apresentou um VDFVE médio menor ($160,8 \pm 51,2$ mL) do que o grupo controle do METOCARD-CNIC ($197,6 \pm 45,7$ mL)⁵⁹, média utilizada no cálculo amostral do presente estudo.

Outros estudos com terapias anti-inflamatórias no contexto do IAMCSSST também não demonstraram diferença no remodelamento cardíaco, como por exemplo o COVERT-MI²², que utilizou colchicina, e o ASSAIL-MI²³, que utilizou tocilizumabe. Entretanto, o estudo COLCOT²⁰ demonstrou benefício clínico do uso da colchicina após IAM, possivelmente secundário a outros benefícios deste anti-inflamatório na fase de recuperação do evento. Entretanto, nesse estudo não foi analisado remodelamento ventricular esquerdo.

Finalmente, há que se considerar que alguns fatores, a serem discutidos em maiores detalhes na sessão de “limitações” (item 5.4 na sequência), podem ter influenciado os resultados obtidos. Em resumo, o fato de não ter sido alcançado o número de pacientes estimado pelo cálculo amostral e o tempo de seguimento eventualmente curto, poderiam influenciar negativamente os resultados.

5.2 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE EFICÁCIA

O grupo LDE-MTX apresentou maior redução no tamanho do infarto em relação ao grupo LDE-placebo, $p=0,030$. Este efeito reforça o observado no estudo experimental com LDE-MTX, onde também foi demonstrada redução do tamanho do infarto tanto em comparação ao grupo controle quanto em relação ao grupo que usou a formulação comercial de MTX⁴⁸.

Diversos estudos já demonstraram que o tamanho do infarto tem relação com remodelamento ventricular⁷⁹, insuficiência cardíaca e, consequentemente, prognóstico^{80,81}. Sendo assim, este dado pode ser considerado um bom desfecho substituto em estudos clínicos para a avaliação do efeito das estratégias terapêuticas⁸².

Este resultado favorável no tamanho do infarto em pacientes que receberam LDE-MTX pode estar relacionado ao seu efeito na inflamação, além da liberação de adenosina induzida que induz, conforme referido previamente. Entretanto, no presente estudo não foram demonstradas diferenças significativas entre os grupos analisados em relação a parâmetros inflamatórios e níveis de adenosina.

O resultado de maior redução no tamanho do infarto no presente estudo difere do estudo TETHYS³⁹, que utilizou MTX em dose baixa EV na fase aguda do IAM e não demonstrou diferença na área sob a curva da CK. Algumas hipóteses poderiam explicar as diferenças observadas: 1) população diferente (primo IAMCSSST de parede anterior *versus* primo IAMCSSST de qualquer parede); 2) formulação do MTX (LDE-MTX *versus* MTX comercial); 3) dose do MTX utilizada ($40\text{mg}/\text{m}^2$ *versus* $0,10\text{mg}/\text{m}^2$); 4) forma de administração (6 doses com intervalo semanal *versus* dose única no período peri-angioplastia primária). Finalmente, saliente-se que no presente estudo a análise de tamanho do infarto foi realizada pela RMC, certamente mais fidedigna do que a área sob a curva de CK.

Assim como o tamanho do infarto, a massa ventricular esquerda também tem implicação clínica, associando-se a pior prognóstico para aqueles pacientes com maior massa ventricular basal⁸³ e progressão da hipertrofia ventricular ao longo do seguimento⁸⁴. No presente estudo, a menor perda de MVE no grupo LDE-MTX em relação ao grupo LDE-placebo possivelmente está relacionada à maior redução no tamanho do infarto.

Como observado, apesar das diferenças encontradas entre os grupos em relação ao tamanho do infarto e à MVE, esses dados não se traduziram em diferença nos volumes do VE e/ou na FEVE (ao contrário do demonstrado pelo estudo experimental)⁴⁸, tampouco nos índices de remodelamento adverso e reverso, o que poderia ter relação com o tempo relativamente curto de seguimento, como será discutido em maiores detalhes em “limitações” (item 5.4 na sequência).

Apesar da hipótese de que o MTX poderia ter efeito sobre os marcadores inflamatórios, a análise de PCR-us, IL-6, IL-10 e TNF α no sangue periférico não mostrou diferenças significativas entre os grupos ao longo do seguimento. Este achado é compatível com o do estudo experimental, que também não demonstrou diferença nos níveis de IL-6, IL-10, IL-1 β e TNF α entre o grupo controle e o grupo LDE-MTX no tecido miocárdico.

Uma possível justificativa para esses resultados poderia estar relacionada ao período em que as análises foram realizadas, já que o tempo de seguimento foi de 3 meses e o intervalo de tempo entre a última dose da medicação do estudo e a coleta da amostra sanguínea para análise foi de cerca de 50 dias. Além disso, a análise de sangue periférico pode não demonstrar o que ocorre a nível celular local.

Adicionalmente, sabe-se que os mecanismos envolvidos na resposta inflamatória do IAM são extremamente amplos e complexos, envolvendo imunidade inata, quimiocinas e citocinas, além de mediadores neuro-humorais³, o que torna esta avaliação uma difícil tarefa na prática dos estudos clínicos.

A obstrução microvascular secundária à grave disfunção da microvasculatura, com perda da sua integridade, é a base do fenômeno de “no-reflow” no IAM. Sua complexa fisiopatologia envolve disfunção microvascular pré-existente, lesão direta pela isquemia, embolização distal de placa ou trombo, vasoespasma e injúria de reperfusão⁸⁵. A disfunção microvascular, mesmo na presença de fluxo TIMI 3 pós IAM, se associa com pior remodelamento ventricular esquerdo⁴ e aumento da mortalidade⁸⁶. Análise realizada com 7 estudos randomizados que incluíram a avaliação de obstrução microvascular após IAMCSSST, demonstrou que a presença e a extensão da obstrução microvascular medida pela RMC estão fortemente associadas a mortalidade e hospitalização por insuficiência cardíaca após 1 ano do evento⁸⁷.

A forte correlação entre PCR e obstrução microvascular encontrada no presente estudo vai ao encontro de evidências prévias, que demonstraram que tanto o valor da PCR quanto sua área sob a curva pós-IAM no período intra-hospitalar estão associadas a maior obstrução microvascular^{88,89}, sendo um preditor de risco adicional à troponina nessa população, correlacionando-se também com o tamanho da área de necrose⁹⁰.

5.3 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS DE SEGURANÇA

No presente estudo não foram observadas diferenças significativas entre os grupos em relação aos parâmetros de segurança clínicos pré-especificados (sintomas clinicamente significativos e eventos adversos sérios).

Como o MTX é um medicamento imunossupressor, também foi monitorada a incidência de quadros infecciosos, e de forma similar não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos.

Analisando-se os parâmetros laboratoriais de segurança, pode-se observar comportamento semelhante das séries hematológicas e das funções hepática e renal. Houve apenas um paciente no grupo LDE-MTX que apresentou alteração laboratorial significativa de ALT, sem nenhuma repercussão clínica, com suspensão apenas temporária da medicação do estudo.

Esta análise corrobora a segurança do uso da formulação LDE-MTX em humanos, assim como foi demonstrado no estudo experimental⁴⁸. Os mecanismos pelos quais a associação ao LDE reduz os efeitos colaterais do MTX não são totalmente conhecidos, mas algumas hipóteses poderiam ser aventadas: 1) quando carregado em LDE, o perfil farmacocinético do MTX é significativamente alterado e assume o das nanopartículas de LDE às quais o fármaco está estavelmente associado; 2) a associação com LDE evita o contato direto do MTX com os tecidos do corpo enquanto está na circulação e determina uma nova biodistribuição para o MTX; 3) a associação ao LDE poderia alterar a compartimentalização intracelular do fármaco, pois enquanto o MTX livre é captado pelas células pelos receptores de folato, o LDE-MTX é internalizado via a via mediada pelo receptor de LDL, que arrasta forçadamente o MTX para os complexos mecanismos de regulação do metabolismo dos esteroides na célula⁴⁸.

5.4 LIMITAÇÕES

O presente estudo apresenta algumas limitações.

Primeiro, o encerramento das inclusões antes de se atingir o total de pacientes calculado previamente faz com que todos os resultados apresentados, inclusive os relacionados à meta principal, sejam exploratórios. Com o surgimento da pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, iniciada no final de 2019, a interrupção das inclusões em março de 2020, quando foram confirmados os primeiros casos no Brasil, foi inevitável. A decisão levou em consideração o fato de que o estudo utilizava uma medicação imunossupressora, o que aumentaria o risco de expor pacientes pós-IAM, com características de maior vulnerabilidade, à infecção e suas possíveis complicações. Devido ao fato de que em dezembro de 2020 não havia qualquer vislumbre de retorno à normalidade, o estudo foi encerrado após várias discussões e cuidados análise das evidências, com participação de cardiologistas, infectologistas e epidemiologistas. Esta decisão foi ao encontro das diretrizes do CONSERVE⁹¹ sobre modificações e encerramento de estudos devido a circunstâncias excepcionais.

Segundo, o tempo de seguimento de 3 meses pode não ter sido suficiente para a análise do remodelamento ventricular. Não existe padronização para esse tipo de avaliação, com publicações utilizando tempos que variam entre 8 semanas e 12 meses ou até mais⁹²⁻⁹⁶. Adicionalmente, há diferentes tipos de comportamento de remodelamento ventricular pós-IAM, sendo que alguns pacientes podem apresentar dilatação ventricular mais tardia que outros⁹⁷.

Finalmente, este é um estudo unicêntrico, prova de conceito, cujo objetivo primário foi um desfecho substituto, sem a capacidade de avaliar desfechos clínicos duros, como óbito. Entretanto, há que se considerar que o remodelamento ventricular esquerdo é um excelente marcador de prognóstico futuro em pacientes com IAM e o método utilizado no presente estudo (RMC) é considerado o padrão-ouro para esse tipo de avaliação⁸².

6 CONCLUSÃO

Numa população de 35 pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, LDE-MTX em comparação a LDE-placebo não alterou o desfecho primário de volume diastólico final do ventrículo esquerdo ou outros parâmetros de remodelamento ventricular esquerdo, apesar de aparente redução do tamanho do infarto após 90 dias de seguimento. Esses dados geradores de hipóteses, em conjunto com a aparente segurança da medicação, apoiam a continuidade da investigação de uma abordagem inovadora de nanomedicina utilizando LDE-MTX em pacientes com IAMCSSST em ensaios clínicos maiores.

REFERÊNCIAS*

* De acordo com Estilo Vancouver.

1. Byrne RA, Rossello X, Coughlan JJ, Barbato E, Berry C, Chieffo A, et al. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes. *Eur Heart J*. 2023;44(38):3720-826.
2. Libby P, Ridker PM, Hansson GK, Leducq Transatlantic Network on A. Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54(23):2129-38.
3. Frangogiannis NG. The inflammatory response in myocardial injury, repair, and remodelling. *Nat Rev Cardiol*. 2014;11(5):255-65.
4. Nicolau JC, Maia LN, Vítola Jo, Vaz VD, Machado MN, Godoy MF, et al. ST-segment resolution and late (6-month) left ventricular remodeling after acute myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology*. 2003;91(4):451-3.
5. Kempf T, Zarbock A, Vestweber D, Wollert KC. Anti-inflammatory mechanisms and therapeutic opportunities in myocardial infarct healing. *J Mol Med (Berl)*. 2012;90(4):361-9.
6. Westman PC, Lipinski MJ, Luger D, Waksman R, Bonow RO, Wu E, Epstein SE. Inflammation as a Driver of Adverse Left Ventricular Remodeling After Acute Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2016;67(17):2050-60.
7. Ridker PM, Rifai N, Clearfield M, Downs JR, Weis SE, Miles JS, et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events. *N Engl J Med*. 2001;344(26):1959-65.
8. Ridker PM, Morrow DA, Rose LM, Rifai N, Cannon CP, Braunwald E. Relative efficacy of atorvastatin 80 mg and pravastatin 40 mg in achieving the dual goals of low-density lipoprotein cholesterol <70 mg/dl and C-reactive protein <2 mg/l: an analysis of the PROVE-IT TIMI-22 trial. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45(10):1644-8.
9. Morrow DA, de Lemos JA, Sabatine MS, Wiviott SD, Blazing MA, Shui A, et al. Clinical relevance of C-reactive protein during follow-up of patients with acute coronary syndromes in the Aggrastat-to-Zocor Trial. *Circulation*. 2006;114(4):281-8.
10. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM, Jr., Kastelein JJ, et al. Reduction in C-reactive protein and LDL cholesterol and cardiovascular event rates after initiation of rosuvastatin: a prospective study of the JUPITER trial. *Lancet*. 2009;373(9670):1175-82.
11. Emerging Risk Factors C, Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, et al. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9709):132-40.
12. Wilson PW, Pencina M, Jacques P, Selhub J, D'Agostino R, Sr., O'Donnell CJ. C-reactive protein and reclassification of cardiovascular risk in the Framingham Heart Study. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2008;1(2):92-7.

13. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, Crowe T, Sasiela WJ, Tsai J, et al. Statin therapy, LDL cholesterol, C-reactive protein, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2005;352(1):29-38.
14. Puri R, Nissen SE, Libby P, Shao M, Ballantyne CM, Barter PJ, et al. C-reactive protein, but not low-density lipoprotein cholesterol levels, associate with coronary atheroma regression and cardiovascular events after maximally intensive statin therapy. *Circulation*. 2013;128(22):2395-403.
15. Mani P, Puri R, Schwartz GG, Nissen SE, Shao M, Kastelein JJP, et al. Association of Initial and Serial C-Reactive Protein Levels With Adverse Cardiovascular Events and Death After Acute Coronary Syndrome: A Secondary Analysis of the VISTA-16 Trial. *JAMA Cardiol*. 2019;4(4):314-20.
16. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, et al. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017;377(12):1119-31.
17. Ridker PM, MacFadyen JG, Everett BM, Libby P, Thuren T, Glynn RJ, Group CT. Relationship of C-reactive protein reduction to cardiovascular event reduction following treatment with canakinumab: a secondary analysis from the CANTOS randomised controlled trial. *Lancet*. 2018;391(10118):319-28.
18. Nidorf SM, Eikelboom JW, Budgeon CA, Thompson PL. Low-dose colchicine for secondary prevention of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2013;61(4):404-10.
19. Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, Eikelboom JW, Schut A, Opstal TSJ, et al. Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease. *N Engl J Med*. 2020;383(19):1838-47.
20. Tardif JC, Kouz S, Waters DD, Bertrand OF, Diaz R, Maggioni AP, et al. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *N Engl J Med*. 2019;381(26):2497-505.
21. Bouabdallaoui N, Tardif JC, Waters DD, Pinto FJ, Maggioni AP, Diaz R, et al. Time-to-treatment initiation of colchicine and cardiovascular outcomes after myocardial infarction in the Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial (COLCOT). *Eur Heart J*. 2020;41(42):4092-9.
22. Mewton N, Roubille F, Bresson D, Prieur C, Bouleti C, Bochaton T, et al. Effect of Colchicine on Myocardial Injury in Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. 2021;144(11):859-69.
23. Broch K, Anstensrud AK, Woxholt S, Sharma K, Tollefsen IM, Bendz B, et al. Randomized Trial of Interleukin-6 Receptor Inhibition in Patients With Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2021;77(15):1845-55.

24. Luger D, Lipinski MJ, Westman PC, Glover DK, Dimastromatteo J, Frias JC, et al. Intravenously Delivered Mesenchymal Stem Cells: Systemic Anti-Inflammatory Effects Improve Left Ventricular Dysfunction in Acute Myocardial Infarction and Ischemic Cardiomyopathy. *Circ Res*. 2017;120(10):1598-613.
25. Wang J, Chen Z, Dai Q, Zhao J, Wei Z, Hu J, et al. Intravenously delivered mesenchymal stem cells prevent microvascular obstruction formation after myocardial ischemia/reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 2020;115(4):40.
26. Nicolau JC, Furtado RHM, Silva SA, Rochitte CE, Rassi A, Jr., Moraes J, Jr., et al. Stem-cell therapy in ST-segment elevation myocardial infarction with reduced ejection fraction: A multicenter, double-blind randomized trial. *Clin Cardiol*. 2018;41(3):392-9.
27. Wessels JA, Huizinga TW, Guchelaar HJ. Recent insights in the pharmacological actions of methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford)*. 2008;47(3):249-55.
28. Rho YH, Oeser A, Chung CP, Milne GL, Stein CM. Drugs Used in the Treatment of Rheumatoid Arthritis: Relationship between Current Use and Cardiovascular Risk Factors. *Arch Drug Inf*. 2009;2(2):34-40.
29. Baggott JE, Morgan SL, Sams WM, Linden J. Urinary adenosine and aminoimidazolecarboxamide excretion in methotrexate-treated patients with psoriasis. *Arch Dermatol*. 1999;135(7):813-7.
30. Mahaffey KW, Puma JA, Barbagelata NA, DiCarli MF, Leeser MA, Browne KF, et al. Adenosine as an adjunct to thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999;34(6):1711-20.
31. Kloner RA, Forman MB, Gibbons RJ, Ross AM, Alexander RW, Stone GW. Impact of time to therapy and reperfusion modality on the efficacy of adenosine in acute myocardial infarction: the AMISTAD-2 trial. *Eur Heart J*. 2006;27(20):2400-5.
32. Micha R, Imamura F, Wyler von Ballmoos M, Solomon DH, Hernan MA, Ridker PM, Mozaffarian D. Systematic review and meta-analysis of methotrexate use and risk of cardiovascular disease. *Am J Cardiol*. 2011;108(9):1362-70.
33. Ridker PM. Testing the inflammatory hypothesis of atherothrombosis: scientific rationale for the cardiovascular inflammation reduction trial (CIRT). *J Thromb Haemost*. 2009;7 Suppl 1:332-9.
34. Everett BM, Pradhan AD, Solomon DH, Paynter N, Macfadyen J, Zaharris E, et al. Rationale and design of the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial: a test of the inflammatory hypothesis of atherothrombosis. *Am Heart J*. 2013;166(2):199-207 e15.
35. Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, MacFadyen JG, Solomon DH, Zaharris E, et al. Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events. *N Engl J Med*. 2019;380(8):752-62.

36. Moreira DM, Vieira JL, Gottschall CA. The effects of METHotrexate therapy on the physical capacity of patients with ISchemic heart failure: a randomized double-blind, placebo-controlled trial (METIS trial). *J Card Fail*. 2009;15(10):828-34.
37. Asanuma H, Sanada S, Ogai A, Minamino T, Takashima S, Asakura M, et al. Methotrexate and MX-68, a new derivative of methotrexate, limit infarct size via adenosine-dependent mechanisms in canine hearts. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2004;43(4):574-9.
38. Moreira DM, Lueneberg ME, da Silva RL, Fattah T, Mascia Gottschall CA. Rationale and design of the TETHYS trial: the effects of methotrexate therapy on myocardial infarction with ST-segment elevation. *Cardiology*. 2013;126(3):167-70.
39. Moreira DM, Lueneberg ME, da Silva RL, Fattah T, Gottschall CAM. Methotrexate THERapy in ST-Segment Elevation MYocardial InfarctionS: A Randomized Double-Blind, Placebo-Controlled Trial (TETHYS Trial). *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2017;22(6):538-45.
40. Saag KG, Teng GG, Patkar NM, Anuntiyo J, Finney C, Curtis JR, et al. American College of Rheumatology 2008 recommendations for the use of nonbiologic and biologic disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*. 2008;59(6):762-84.
41. Ltda. LP. MIAN TREX* CS (metotrexato). In: Ltda. LP, editor.
42. Moura JA, Valduga CJ, Tavares ER, Kretzer IF, Maria DA, Maranhao RC. Novel formulation of a methotrexate derivative with a lipid nanoemulsion. *Int J Nanomedicine*. 2011;6:2285-95.
43. Maranhao RC, Garicochea B, Silva EL, Dorlhiac-Llacer P, Cadena SM, Coelho IJ, et al. Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low-density lipoprotein in patients with acute leukemia. *Cancer Res*. 1994;54(17):4660-6.
44. Hungria VT, Latrilha MC, Rodrigues DG, Bydlowski SP, Chiattoni CS, Maranhao RC. Metabolism of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) in patients with multiple myeloma and a preliminary clinical study of LDE as a drug vehicle for the treatment of the disease. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2004;53(1):51-60.
45. Pinheiro KV, Hungria VT, Ficker ES, Valduga CJ, Mesquita CH, Maranhao RC. Plasma kinetics of a cholesterol-rich microemulsion (LDE) in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin's lymphoma and a preliminary study on the toxicity of etoposide associated with LDE. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2006;57(5):624-30.
46. Mello SB, Tavares ER, Guido MC, Bonfa E, Maranhao RC. Anti-inflammatory effects of intravenous methotrexate associated with lipid nanoemulsions on antigen-induced arthritis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2016;71(1):54-8.

47. Bulgarelli A, Leite AC, Jr., Dias AA, Maranhao RC. Anti-atherogenic effects of methotrexate carried by a lipid nanoemulsion that binds to LDL receptors in cholesterol-fed rabbits. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2013;27(6):531-9.
48. Maranhao RC, Guido MC, de Lima AD, Tavares ER, Marques AF, Tavares de Melo MD, et al. Methotrexate carried in lipid core nanoparticles reduces myocardial infarction size and improves cardiac function in rats. *Int J Nanomedicine.* 2017;12:3767-84.
49. Montesinos MC, Takedachi M, Thompson LF, Wilder TF, Fernandez P, Cronstein BN. The antiinflammatory mechanism of methotrexate depends on extracellular conversion of adenine nucleotides to adenosine by ecto-5'-nucleotidase: findings in a study of ecto-5'-nucleotidase gene-deficient mice. *Arthritis Rheum.* 2007;56(5):1440-5.
50. Cronstein BN, Eberle MA, Gruber HE, Levin RI. Methotrexate inhibits neutrophil function by stimulating adenosine release from connective tissue cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(6):2441-5.
51. Friedman B, Cronstein B. Methotrexate mechanism in treatment of rheumatoid arthritis. *Joint Bone Spine.* 2019;86(3):301-7.
52. Hasko G, Linden J, Cronstein B, Pacher P. Adenosine receptors: therapeutic aspects for inflammatory and immune diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2008;7(9):759-70.
53. Borea PA, Gessi S, Merighi S, Varani K. Adenosine as a Multi-Signalling Guardian Angel in Human Diseases: When, Where and How Does it Exert its Protective Effects? *Trends Pharmacol Sci.* 2016;37(6):419-34.
54. Idzko M, Ferrari D, Eltzschig HK. Nucleotide signalling during inflammation. *Nature.* 2014;509(7500):310-7.
55. Antonioli L, Csoka B, Fornai M, Colucci R, Kokai E, Blandizzi C, Hasko G. Adenosine and inflammation: what's new on the horizon? *Drug Discov Today.* 2014;19(8):1051-68.
56. Investigational New Drug Safety Reporting Requirements for Human Drug and Biological Products and Safety Reporting Requirements for Bioavailability and Bioequivalence Studies in Humans, (2010).
57. Stevens LA, Manzi J, Levey AS, Chen J, Deysher AE, Greene T, et al. Impact of creatinine calibration on performance of GFR estimating equations in a pooled individual patient database. *Am J Kidney Dis.* 2007;50(1):21-35.
58. Agency BC. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual©. BC Cancer Agency Cancer Drug Manual©. 1 aug 2017 ed. Vancouver, British Columbia: BC Cancer Agency; 2017. p. 11-6.

-
59. Pizarro G, Fernandez-Friera L, Fuster V, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Ruiz JM, Garcia-Alvarez A, et al. Long-term benefit of early pre-reperfusion metoprolol administration in patients with acute myocardial infarction: results from the METOCARD-CNIC trial (Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol*. 2014;63(22):2356-62.
 60. McKay RG, Pfeffer MA, Pasternak RC, Markis JE, Come PC, Nakao S, et al. Left ventricular remodeling after myocardial infarction: a corollary to infarct expansion. *Circulation*. 1986;74(4):693-702.
 61. St John Sutton M, Pfeffer MA, Moye L, Plappert T, Rouleau JL, Lamas G, et al. Cardiovascular death and left ventricular remodeling two years after myocardial infarction: baseline predictors and impact of long-term use of captopril: information from the Survival and Ventricular Enlargement (SAVE) trial. *Circulation*. 1997;96(10):3294-9.
 62. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2012;33(20):2551-67.
 63. Mundell L, Lindemann R, Douglas J. Monitoring long-term oral corticosteroids. *BMJ Open Qual*. 2017;6(2):e000209.
 64. Hospira I. Methotrexate Injection, USP. 2011;Reference ID: 3033070.
 65. Furer V, Rondaan C, Heijstek MW, Agmon-Levin N, van Assen S, Bijl M, et al. 2019 update of EULAR recommendations for vaccination in adult patients with autoimmune inflammatory rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis*. 2020;79(1):39-52.
 66. Rosowsky A, Forsch RA, Yu CS, Lazarus H, Beardsley GP. Methotrexate analogues. 21. Divergent influence of alkyl chain length on the dihydrofolate reductase affinity and cytotoxicity of methotrexate monoesters. *J Med Chem*. 1984;27(5):605-9.
 67. Friedrich MG, Abdel-Aty H, Taylor A, Schulz-Menger J, Messroghli D, Dietz R. The salvaged area at risk in reperfused acute myocardial infarction as visualized by cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51(16):1581-7.
 68. Botker HE, Kaltoft AK, Pedersen SF, Kim WY. Measuring myocardial salvage. *Cardiovasc Res*. 2012;94(2):266-75.
 69. Bergmeyer HU, Scheibe P, Wahlefeld AW. Optimization of methods for aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase. *Clin Chem*. 1978;24(1):58-73.
 70. von Pape KW, Dzijan-Horn M, Bohner J, Spannagl M, Weisser H, Calatzis A. [Control of aspirin effect in chronic cardiovascular patients using two whole blood platelet function assays. PFA-100 and Multiplate]. *Hamostaseologie*. 2007;27(3):155-60; quiz 61-2.

71. Sibbing D, Braun S, Jawansky S, Vogt W, Mehilli J, Schomig A, et al. Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment. *Thromb Haemost*. 2008;99(1):121-6.
72. (WMA) TWMA. WMA DECLARATION OF HELSINKI – ETHICAL PRINCIPLES FOR MEDICAL RESEARCH INVOLVING HUMAN SUBJECTS. 2013; Adopted by the 18th WMA General Assembly, Helsinki, Finland, June 1964
and last amended by the 64th WMA General Assembly, Fortaleza, Brazil, October 2013.
73. Schulz KF, Altman DG, Moher D, Group C. CONSORT 2010 Statement: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMC Med*. 2010;8:18.
74. Killip T, Kimball JT. Treatment of myocardial infarction in a coronary care unit. *The American Journal of Cardiology*. 1967;20(4):457-64.
75. Morrow DA, Antman EM, Charlesworth A, Cairns R, Murphy SA, de Lemos JA, et al. TIMI risk score for ST-elevation myocardial infarction: A convenient, bedside, clinical score for risk assessment at presentation: An intravenous nPA for treatment of infarcting myocardium early II trial substudy. *Circulation*. 2000;102(17):2031-7.
76. Mehran R, Pocock SJ, Nikolsky E, Clayton T, Dangas GD, Kirtane AJ, et al. A risk score to predict bleeding in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(23):2556-66.
77. Noble MI, Wyler J, Milne EN, Trenchard D, Guz A. Effect of changes in heart rate on left ventricular performance in conscious dogs. *Circ Res*. 1969;24(2):285-95.
78. Erbel R, Schweizer P, Krebs W, Langen HJ, Meyer J, Effert S. Effects of heart rate changes on left ventricular volume and ejection fraction: a 2-dimensional echocardiographic study. *Am J Cardiol*. 1984;53(4):590-7.
79. Chareonthaitawee P, Christian TF, Hirose K, Gibbons RJ, Rumberger JA. Relation of initial infarct size to extent of left ventricular remodeling in the year after acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1995;25(3):567-73.
80. Burns RJ, Gibbons RJ, Yi Q, Roberts RS, Miller TD, Schaer GL, et al. The relationships of left ventricular ejection fraction, end-systolic volume index and infarct size to six-month mortality after hospital discharge following myocardial infarction treated by thrombolysis. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39(1):30-6.
81. Bulluck H, Yellon DM, Hausenloy DJ. Reducing myocardial infarct size: challenges and future opportunities. *Heart*. 2016;102(5):341-8.

-
82. Baine KR, Patel MR, Armstrong PW. Evaluation of Cardiac Magnetic Resonance as a Surrogate in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Am J Cardiol*. 2015;115(11):1607-14.
 83. Verma A, Meris A, Skali H, Ghali JK, Arnold JM, Bourgoun M, et al. Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: the VALIANT (VALsartan In Acute myocardial iNfarcTion) Echocardiographic Study. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2008;1(5):582-91.
 84. Park JS, Shin JS, Lee YH, Seo KW, Choi BJ, Choi SY, et al. Prognostic impact of left ventricular mass change in patients with ST-elevation myocardial infarction. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(4):e9748.
 85. Niccoli G, Scalone G, Lerman A, Crea F. Coronary microvascular obstruction in acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2016;37(13):1024-33.
 86. de Lemos JA, Antman EM, Giugliano RP, McCabe CH, Murphy SA, Van de Werf F, et al. ST-segment resolution and infarct-related artery patency and flow after thrombolytic therapy. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) 14 investigators. *Am J Cardiol*. 2000;85(3):299-304.
 87. de Waha S, Patel MR, Granger CB, Ohman EM, Maehara A, Eitel I, et al. Relationship between microvascular obstruction and adverse events following primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: an individual patient data pooled analysis from seven randomized trials. *Eur Heart J*. 2017;38(47):3502-10.
 88. Mayr A, Klug G, Schocke M, Trieb T, Mair J, Pedarnig K, et al. Late microvascular obstruction after acute myocardial infarction: relation with cardiac and inflammatory markers. *Int J Cardiol*. 2012;157(3):391-6.
 89. Holzknecht M, Tiller C, Reindl M, Lechner I, Troger F, Hosp M, et al. C-reactive protein velocity predicts microvascular pathology after acute ST-elevation myocardial infarction. *Int J Cardiol*. 2021;338:30-6.
 90. Orn S, Manhenke C, Ueland T, Damas JK, Mollnes TE, Edvardsen T, et al. C-reactive protein, infarct size, microvascular obstruction, and left-ventricular remodelling following acute myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2009;30(10):1180-6.
 91. Orkin AM, Gill PJ, Ghera D, Campbell L, Sugarman J, Emsley R, et al. Guidelines for Reporting Trial Protocols and Completed Trials Modified Due to the COVID-19 Pandemic and Other Extenuating Circumstances: The CONSERVE 2021 Statement. *JAMA*. 2021;326(3):257-65.
 92. Kramer CM, Rogers WJ, Theobald TM, Power TP, Geskin G, Reichek N. Dissociation between changes in intramyocardial function and left ventricular volumes in the eight weeks after first anterior myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30(7):1625-32.

93. Najjar SS, Rao SV, Melloni C, Raman SV, Povsic TJ, Melton L, et al. Intravenous erythropoietin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: REVEAL: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2011;305(18):1863-72.
94. Gerbaud E, Montaudon M, Chasseriaud W, Gilbert S, Cochet H, Pucheu Y, et al. Effect of ivabradine on left ventricular remodelling after reperfused myocardial infarction: A pilot study. *Arch Cardiovasc Dis*. 2014;107(1):33-41.
95. Clerfond G, Biere L, Mateus V, Grall S, Willoteaux S, Prunier F, Furber A. End-systolic wall stress predicts post-discharge heart failure after acute myocardial infarction. *Arch Cardiovasc Dis*. 2015;108(5):310-20.
96. Weir RA, Tsorlalis IK, Steedman T, Dargie HJ, Fraser R, McMurray JJ, Connell JM. Aldosterone and cortisol predict medium-term left ventricular remodelling following myocardial infarction. *Eur J Heart Fail*. 2011;13(12):1305-13.
97. Bolognese L, Neskovic AN, Parodi G, Cerisano G, Buonamici P, Santoro GM, Antoniucci D. Left ventricular remodeling after primary coronary angioplasty: patterns of left ventricular dilation and long-term prognostic implications. *Circulation*. 2002;106(18):2351-7.

APÊNDICE

Apêndice A - Tabelas suplementares

Características basais da população global*

	Total (n=35)	LDE-placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Idade (anos)	57,23 ± 7,61	57,82 ± 8,44	56,67 ± 6,93
Sexo masculino - n (%)	30 (85,7)	15 (88,2)	15 (83,3)
Exame físico			
Frequência cardíaca (bpm)	78,71 ± 11,08	78,88 ± 11,50	78,56 ± 10,99
PAS (mmHg)	110,40 ± 13,15	112,47 ± 14,48	108,44 ± 11,83
IMC (kg/m ²)	27,12 ± 4,17	26,46 ± 4,58	27,75 ± 3,78
ASC (m ²)	1,87 ± 0,21	1,83 ± 0,19	1,91 ± 0,22
Comorbidades			
HAS, n (%)	20 (57,1)	9 (52,9)	11 (61,1)
Dislipidemia, n (%)	14 (40,0)	7 (41,2)	7 (38,9)
Diabetes Mellitus, n (%)	11 (31,4)	5 (29,4)	6 (33,3)
AVC, n (%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
História familiar de DAC, n (%)	7 (20,0)	3 (17,7)	4 (22,2)
Obesidade, n (%)	7 (20,0)	3 (17,7)	4 (22,2)
Sedentarismo, n (%)	10 (28,6)	3 (17,7)	7 (38,9)
Tabagismo			
Atual, n (%)	13 (37,1)	8 (47,1)	5 (27,8)
Passado, n (%)	10 (28,6)	3 (17,7)	7 (38,9)
Não, (%)	12 (34,3)	6 (35,3)	6 (33,3)
Exames laboratoriais			
Colesterol (mg/dL)	216,80 ± 47,32	227,24 ± 55,97	206,94 ± 36,30
HDL-C (mg/dL)	40,43 ± 11,76	40,88 ± 13,10	40,00 ± 10,72
LDL-C (mg/dL)&	143,31 ± 41,93	152,76 ± 54,32	134,39 ± 23,78
Triglicerídeos (mg/dL)&	178,77 ± 207,62	190,94 ± 268,63	167,28 ± 134,20
HbA1C&	6,44 ± 1,52	6,59 ± 1,87	6,30 ± 1,17
TGF (mL/min/1,73m ²)	78,15 ± 15,91	81,62 ± 18,19	77,86 ± 13,10
Troponina pico (ng/mL)&	118,79 ± 161,94	126,33 ± 178,67	111,66 ± 149,30
CKMB pico (ng/mL) &	198,38 ± 127,52	199,62 ± 139,11	197,20 ± 119,62
Hemoglobina (g/dL)	13,78 ± 1,45	13,97 ± 1,16	13,60 ± 1,68
Hematócrito (%)	40,89 ± 4,20	41,35 ± 3,08	40,44 ± 5,09
Leucócitos (n/mm ³)	9413,43 ± 2206,50	9117,65 ± 2454,28	9692,78 ± 1974,34
Neutrófilos (n/mm ³)	5934,14 ± 2037,23	5890,65 ± 2174,35	5975,22 ± 1961,45
Plaquetas (n/mm ³)	219685,70 ± 59117,91	217764,70 ± 34401,18	221500,00 ± 76608,44
TGO (U/L) &	105,89 ± 77,37	112,41 ± 103,76	99,72 ± 41,89
TGP (U/L)	52,31 ± 17,79	47,82 ± 19,95	56,56 ± 14,81
Bilirrubinas (mg/dL) &	0,59 ± 0,26	0,53 ± 0,17	0,65 ± 0,31
Albumina (g/dL)	3,31 ± 0,32	3,25 ± 0,37	3,37 ± 0,26

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

& Variáveis analisadas após transformação logarítmica.

HAS: hipertensão arterial sistêmica; AVC: acidente vascular cerebral; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; Hb1Ac: hemoglobina glicada; TFG: taxa de filtração glomerular; CKMB: creatinoquinase MB; AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase

Medicações basais utilizadas pela população global*

Medicação	Total (n=35)	LDE-placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
AAS, n (%)	35 (100,0)	17 (100,0)	18 (100,0)
Clopidogrel, n (%)	35 (100,0)	17 (100,0)	18 (100,0)
Estatina, n (%)	35 (100,0)	17 (10,0)	18 (100,0)
Betabloqueador, n (%)	21 (60,0)	11 (64,7)	10 (55,6)
iECA/BRA, n (%)	28 (80,0)	15 (88,2)	13 (72,2)
Espironolactona, n (%)	9 (25,7)	4 (23,5)	5 (27,8)
IBP, n (%)	0 (0,0)	0 (0,0)	0 (0,0)
Ranitidina, n (%)	23 (65,7)	11 (64,7)	12 (66,7)

Valores apresentados em número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

AAS: ácido acetilsalicílico; iECA: inibidor da enzima de conversão da angiotensina II; BRA: bloqueador do receptor de angiotensina-II; IBP: inibidor de bomba de prótons.

Características do evento-índice na população global

Características do IAMCSSST	Total (n=35)	LDE-placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Escores de risco			
Classificação Killip ⁷⁴			
Killip I	27 (77,1)	12 (70,6)	15 (83,3)
Killip II	8 (22,9)	5 (29,4)	3 (16,7)
Escore TIMI ^{75&}	3,77 ± 1,75	4,29 ± 1,65	3,28 ± 1,74
Escore Roxana ^{76&}	16,09 ± 5,29	16,47 ± 5,87	15,72 ± 4,82
Ecocardiograma			
FEVE (%)	43,31 ± 8,80	43,94 ± 9,91	42,72 ± 7,87
Cineangiocoronariografia			
Padrão das lesões coronárias			
Uniarterial, n(%)	20 (57,1)	8 (47,1)	12 (66,7)
Biarterial, n(%)	8 (22,9)	4 (23,5)	4 (22,2)
Triarterial, n(%)	7 (20,0)	5 (29,4)	2 (11,1)
Tratamento do infarto agudo do miocárdio			
Fibrinolítico, n(%)	21 (60,0)	12 (70,6)	9 (50,0)
ICP primária, n(%)	14 (40,0)	5 (29,4)	9 (50,0)
ICP de resgate, n / n fibrinolítico (%)	13/21 (61,9)	7/12 (58,3)	6/9 (66,7)
Tempo de isquemia (ΔT)	11,70 ± 8,53	11,89 ± 7,60	11,52 ± 9,55
Tempo UCO	5,44 ± 1,85	5,50 ± 1,93	5,39 ± 1,82
Tempo hospitalização ^{&}	7,20 ± 3,01	6,76 ± 3,05	7,61 ± 2,99

Valores apresentados em média ± desvio-padrão ou número (percentual).

* Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos, exceto escore TIMI p = 0,044.

[&] Variáveis analisadas após transformação logarítmica.

IAMCSSST: infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST; FEVE: fração de ejeção de ventrículo esquerdo; ICP: intervenção coronária percutânea; UCO: Unidade Coronária de Terapia Intensiva.

Parâmetros hematológicos ao longo do seguimento

	Visita	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
Hb (g/dL)	1	13,85 ± 1,48	14,11 ± 1,13	13,63 ± 1,73	0,519
	2	13,93 ± 1,62	14,09 ± 1,21	13,79 ± 1,94	
	3	13,18 ± 1,61	13,37 ± 1,49	13,01 ± 1,73	
	4	13,07 ± 1,56	13,09 ± 1,49	13,05 ± 1,67	
	5	13,21 ± 1,55	13,43 ± 1,21	13,02 ± 1,81	
	6	13,12 ± 1,32	13,19 ± 0,92	13,06 ± 1,62	
	7	13,04 ± 1,35	13,06 ± 1,15	13,02 ± 1,53	
	8	13,83 ± 1,42	13,77 ± 1,17	13,88 ± 1,64	
HT (%)	1	41,00 ± 4,34	41,67 ± 3,06	40,41 ± 5,24	0,081
	2	41,09 ± 4,40	41,47 ± 3,34	40,76 ± 5,25	
	3	38,81 ± 4,52	39,67 ± 4,35	38,06 ± 4,66	
	4	38,97 ± 4,28	38,93 ± 4,46	39,00 ± 4,26	
	5	39,34 ± 4,15	40,33 ± 3,33	38,47 ± 4,68	
	6	39,09 ± 3,65	39,47 ± 2,77	38,76 ± 4,34	
	7	38,56 ± 4,30	39,00 ± 3,46	38,18 ± 5,00	
	8	40,91 ± 3,88	40,67 ± 3,24	41,12 ± 4,46	
Leucócitos (n/mm ³)	1	9256,88 ± 2083,76	8635,33 ± 2092,57	9805,29 ± 1974,72	0,307
	3	8379,69 ± 1848,47	8595,33 ± 1885,88	8189,41 ± 1850,96	
	4	7915,63 ± 1959,72	8090,67 ± 2042,25	7761,18 ± 1933,26	
	5	7600,00 ± 2276,77	7517,33 ± 1936,44	7672,94 ± 2598,13	
	6	7256,25 ± 1951,82	7053,33 ± 1723,85	7435,29 ± 2169,85	
	7	6802,81 ± 1760,13	6784,67 ± 1993,22	6818,82 ± 1589,21	
	8	7361,56 ± 2103,93	7184,67 ± 2001,41	7517,65 ± 2239,69	
Plaquetas (n/mm ³)	1	224406 ± 59413	222466 ± 33886	226117 ± 76340	0,568
	2	265781 ± 85664	256766 ± 50054	274176 ± 108931	
	3	306750 ± 84659	297266 ± 67442	315117 ± 98731	
	4	324531 ± 89993	313933 ± 74639	333882 ± 103046	
	5	268812 ± 65889	262266 ± 58421	274588 ± 73139	
	6	230156 ± 59430	213866 ± 41334	244529 ± 69856	
	7	230687 ± 68532	221600 ± 52437	238705 ± 81019	
	8	229843 ± 64815	227800 ± 53420	231647 ± 75068	

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX, análise de variância com medidas repetidas – estudo da interação grupo de estudo e momento de avaliação (comportamento dos grupos de estudo ao longo das avaliações realizadas).

Hb: hemoglobina; HT: hematócrito.

Parâmetros hepáticos ao longo do seguimento

	Visita	Total (n=32)	LDE-placebo (n=15)	LDE-MTX (n=17)	p*
AST ^{&} (U/L)	1	103,41 ± 78,52	114,80 ± 110,21	93,35 ± 33,00	0,190
	3	36,13 ± 14,43	36,93 ± 14,27	35,41 ± 14,97	
	4	26,22 ± 12,52	25,67 ± 13,76	26,71 ± 11,73	
	5	24,31 ± 7,96	24,33 ± 10,51	24,29 ± 5,12	
	6	25,84 ± 7,27	26,73 ± 8,61	25,06 ± 6,00	
	7	25,00 ± 6,95	22,80 ± 5,10	26,94 ± 7,89	
	8	24,53 ± 8,89	24,73 ± 6,61	24,35 ± 10,71	
ALT ^{&} (U/L)	1	51,81 ± 17,74	47,40 ± 20,18	55,71 ± 14,80	0,184
	3	66,44 ± 32,94	59,73 ± 25,71	72,35 ± 38,00	
	4	51,22 ± 29,09	45,93 ± 31,21	55,88 ± 27,17	
	5	43,28 ± 18,36	41,53 ± 25,44	44,82 ± 9,03	
	6	42,53 ± 14,66	36,20 ± 11,58	48,12 ± 15,11	
	7	46,50 ± 21,18	36,07 ± 11,96	55,71 ± 23,48	
	8	38,88 ± 16,71	36,40 ± 8,62	41,06 ± 21,57	
Bilirrubinas (mg/dL)	1	0,57 ± 0,22	0,53 ± 0,18	0,61 ± 0,25	0,149
	3	0,48 ± 0,19	0,52 ± 0,21	0,45 ± 0,17	
	4	0,47 ± 0,21	0,42 ± 0,14	0,52 ± 0,24	
	5	0,53 ± 0,22	0,50 ± 0,16	0,55 ± 0,27	
	6	0,53 ± 0,25	0,52 ± 0,19	0,55 ± 0,31	
	7	0,53 ± 0,23	0,55 ± 0,23	0,52 ± 0,24	
	8	0,57 ± 0,23	0,57 ± 0,18	0,56 ± 0,28	

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX, análise de variância com medidas repetidas – estudo da interação grupo de estudo e momento de avaliação (comportamento dos grupos de estudo ao longo das avaliações realizadas).

[&] variáveis analisadas através da transformação logarítmica.

AST: aspartato aminotransferase; ALT: alanina aminotransferase.

Função renal ao longo do seguimento

	Visita	Total (n=35)	LDE-placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)	p*
TGF (mL/kg/min)	1	78,22 ± 16,32	81,60 ± 19,03	75,25 ± 13,39	0,516
	3	79,37 ± 19,36	77,82 ± 14,91	80,74 ± 22,96	
	4	80,41 ± 20,13	80,18 ± 18,25	80,61 ± 22,21	
	5	83,37 ± 20,86	82,19 ± 16,07	84,41 ± 24,79	
	6	83,35 ± 20,02	83,17 ± 14,02	83,52 ± 24,58	
	7	82,25 ± 18,88	80,05 ± 16,83	84,19 ± 20,84	
	8	83,97 ± 15,59	86,76 ± 12,64	81,51 ± 17,81	

Valores apresentados em média ± desvio-padrão.

* valor de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX, análise de variância com medidas repetidas – estudo da interação grupo de estudo e momento de avaliação (comportamento dos grupos de estudo ao longo das avaliações realizadas).

TGF: taxa de filtração glomerular estimada pela fórmula MDRD.

Outros desfechos de segurança não relacionados à medicação do estudo*

	LDE-Placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Indivíduos com EA não relacionado à medicação do estudo.	13 (76,5)	13 (72,2)
Indivíduos com qualquer EA não-sério não relacionado à medicação do estudo.	7 (41,2)	13 (72,2)
Indivíduos com qualquer EA sério não relacionado à medicação do estudo.	4 (23,5)	3 (16,7)

Valores apresentados em número (percentual).

*Valores de p para comparação entre grupo LDE-Placebo e LDE-MTX não significativos.

EA: evento adverso

Suspensão da medicação do estudo*

	Total (n=35)	LDE-Placebo (n=17)	LDE-MTX (n=18)
Qualquer evento adverso levando a suspensão temporária da medicação do estudo	9 (25,7)	3 (17,7)	6 (33,3)
Qualquer evento adverso levando a suspensão definitiva da medicação do estudo	2 (5,7)	0 (0,0)	1 (5,6)
Qualquer evento adverso sério levando a suspensão temporária da medicação do estudo	1 (2,8)	1 (5,9)	0 (0,0)
Qualquer evento adverso sério levando a suspensão definitiva da medicação do estudo	1 (2,8)	1 (5,9)	0 (0,0)

Valores apresentados em número (percentual).

*Valores de p para comparação entre grupo LDE-placebo e grupo LDE-MTX não significativos.

ANEXOS

Anexo A - Aprovação pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do metotrexato carreado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 4

CAAE: 68743417.5.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.476.710

Apresentação do Projeto:

Os itens "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram extraídos do arquivo "PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_917071.pdf", gerado a partir das informações inseridas pela Pesquisadora Responsável do estudo na Plataforma Brasil em 02.01.2018.

INTRODUÇÃO

Inflamação e remodelamento ventricular esquerdo no infarto:

A inflamação é extremamente importante na fisiopatologia da aterosclerose e da aterotrombose, assim como no pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSST), onde participa ativamente do processo de remodelamento ventricular esquerdo (RVE).

A reperfusão precoce bem-sucedida é altamente eficaz para limitar a necrose tissular e melhorar desfechos no IAMCSST, mas em muitos casos ocorre comprometimento residual da microcirculação, fenômeno também relacionado à inflamação, piora o RVE, mesmo na presença de fluxo TIMI 3. Adicionalmente, a inflamação pode se estender para o miocárdio remoto não infartado, o que também pode contribuir para pior RVE.

Como demonstrado por Westman et al em revisão recente, apesar do tamanho do infarto estar

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 2.476.710

relacionado ao desenvolvimento de RVE positivo ("mau" RVE), alguns pacientes com infartos relativamente pequenos também apresentam esse padrão. Assim sendo, além do tamanho do IAM, diferenças individuais na resposta inflamatória, talvez em parte genética, epigenética, ambiental ou patogenicamente moduladas, também parecem contribuir para o desenvolvimento (ou não) do RVE positivo.

O uso de biomarcadores inflamatórios para prever risco, monitorar tratamentos e guiar terapias tem mostrado bom potencial de aplicabilidade clínica. Por exemplo, estudos em prevenção primária e secundária de doença cardiovascular (DCV) mostraram que indivíduos com menores níveis de proteína C ultrasensível (PCR-us) têm melhores desfechos clínicos do que aqueles com níveis elevados.

Existe, portanto, um racional favorável ao uso de terapias anti-inflamatórias como coadjuvantes às terapias de reperfusão, no sentido de atenuar ou prevenir a disfunção ventricular esquerda pós-IAM.

Metotrexato e as nanoemulsões lipídicas:

Dentre as terapias anti-inflamatórias existentes no mercado, o metotrexato (MTX) é uma das mais utilizadas, principalmente no tratamento das doenças reumatológicas e oncológicas. Este fármaco reduz comprovadamente reduz os níveis de vários biomarcadores inflamatórios, como PCR-us, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF), sem afetar negativamente o perfil lipídico, homocisteína, níveis glicêmicos ou pressão arterial.

Além disso, existem estudos mostrando que o MTX atua liberando diretamente e indiretamente adenosina, o que pode ser especialmente útil em pacientes infartados.

Em revisão sistemática com doentes reumatológicos (incluindo artrite reumatóide, psoríase ou poliartrite), o MTX se associou a um risco 21% menor de DCV e 18% menor de IAM, sugerindo que o uso deste medicamento pode reduzir o risco cardiovascular de forma significativa.

Para explorar esta opção de tratamento, o estudo CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) foi desenhado para avaliar o efeito do MTX na prevenção secundária de pacientes portadores de doença coronariana estável e alto risco para eventos isquêmicos. Este estudo, patrocinado pelo governo norte-americano (NIH), está em andamento no momento.

No sentido de manter o seu efeito benéfico e, ao mesmo tempo, melhor controlar os efeitos colaterais potenciais do MTX, Moura et al desenvolveram uma nova formulação utilizando um derivado lipofílico do MTX, o didodecil metotrexato (ddMTX), associado a uma nanoemulsão lipídica (ddMTX-LDE).

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

Nanoemulsões lipídicas (LDE) que se ligam a receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram primeiramente desenvolvidas e estudadas no cenário oncológico por Maranhão et al, que demonstrou que os agentes quimioterápicos associados ao LDE são concentrados nos tecidos com superexpressão de receptores de LDL, diminuindo a toxicidade do tratamento. Esta nanoemulsão já foi testada em pacientes com leucemia aguda, mieloma múltiplo e linfoma Hodgkin e não-Hodgkin, demonstrando que a LDE é absorvida por células malignas com elevado número de receptores LDL e que pode ser utilizada como veículo para administração de medicações com alta eficiência.

Moura et al demonstraram que a formulação ddMTX-LDE é estável e sua absorção pelas células neoplásicas in vitro foi melhor do que a preparação comercial do MTX, com menor toxicidade hematológica. Mello et al, testando ddMTX-LDE intravenoso em coelhos, demonstraram que os efeitos anti-inflamatórios na sinóvia das articulações com artrite foram melhores que a preparação comercial do MTX, sendo esses resultados relacionados à maior absorção de MTX pelas articulações quando o medicamento é associado à LDE.

Finalmente, Bulgarelli et al demonstraram que, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol, o ddMTX-LDE reduziu a formação de lesões ateroscleróticas e a inflamação vascular. Especificamente no cenário de IAM, Maranhão et al, estudando ratos Wistar tratados com LDE isolado, MTX comercial ou ddMTX-LDE, encontraram significativa melhora no RVE e na diminuição do tamanho do infarto no grupo ddMTX-LDE, em comparação com os grupos MTX comercial e LDE isolado. Entretanto, apesar do racional bastante atraente, e das evidências previamente apresentadas, nada se sabe sobre o papel do ddMTX-LD no RVE e tamanho do infarto em humanos, foco principal do presente projeto de investigação.

HIPÓTESE

O LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

METODOLOGIA

Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, "prova de conceito". Pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior serão randomizados com 4±2 dias após o

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

início dos sintomas para receber LDE-ddMTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana por 6 semanas. Todos os participantes do estudo receberão adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo. Os desfechos primários e secundários levarão em conta os dados obtidos pela RMC, e as amostras sanguíneas para realização dos exames laboratoriais serão coletadas conforme fluxograma em anexo.

Os pacientes serão submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais cuidadosas de segurança conforme fluxograma e plano de visitas pré-determinados.

Avaliações de segurança incluirão avaliação de efeitos colaterais, testes laboratoriais, condições clínicas associadas e procedimentos médicos planejados que necessitem suspensão da medicação do estudo. Estas visitas também incluirão triagem de ocorrência de eventos clínicos de interesse especial. Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo baseado nas avaliações clínicas e laboratoriais será seguido de forma padronizada.

Análises interinas pré-especificadas serão realizadas de forma aberta por um investigador independente quando 20% e 50% dos participantes do estudo forem incluídos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. Idade > 18 anos e < 75 anos;
2. Pacientes com diagnóstico de primeiro IAMCSST de parede anterior do tipo 1 caracterizado por: sintomas isquêmicos, nova elevação do segmento ST em pelo menos 2 derivações contíguas (0.25 mV em homens com menos de 40 anos, 0,25 em homens com < 40 anos e 0.15 mV em mulheres nas derivações V2-V3 e/ou 0.1 mV em outras derivações anteriores ou bloqueio de ramo esquerdo [BRE] novo) e marcadores de necrose miocárdica (troponina e/ou CKMB) com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência.
3. Submetidos à terapia de reperfusão (trombólise e/ou angioplastia).
4. Cineangiocoronariografia demonstrando terapia de reperfusão bem-sucedida (fluxo Thrombolysis in Myocardial Infarction [TIMI] 3) e obstrução residual na artéria "culpada" <50%, independentemente de ter sido submetido ou não a intervenção coronária percutânea.
5. Assintomáticos, sem sinais de descompensação clínica (FC < 100bpm, PAS > 90mmHg, sem medicação vasoativa ou inotrópica parenteral, oximetria de pulso > 95% em ar ambiente).
6. Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 2.476.710

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. Infarto prévio;
2. Taxa de filtração glomerular estimada $< 40 \text{ mL/min/1.73 m}^2$;
3. Contraindicações para RMC: presença de marcapasso definitivo, desfibrilador, implante ou fragmentos metálicos cocleares, clipe metálico cerebral, claustrofobia, obesidade (acima de 150kg), impossibilidade de decúbito dorsal, incapacidade de manter 10 segundos de apnéia;
4. História prévia de doença crônica infecciosa (tuberculose, doença fúngica ou HIV);
5. Infecção crônica por vírus da hepatite B ou C;
6. História de pneumonite intersticial, bronquiectasias ou fibrose pulmonar ou radiografia de tórax dos últimos 12 meses com evidências destas afecções;
7. História prévia de neoplasia maligna (não basocelular), doença mieloproliferativa ou linfoproliferativa nos últimos 5 anos;
8. Contagem de leucócitos $< 4000/\text{mm}^3$, hematócrito $< 32\%$, ou contagem de plaquetas $< 75000/\text{mm}^3$;
9. Alanina aminotransferase (ALT) < 2 vezes o limite superior da normalidade;
10. História de abuso de álcool ou incapacidade/discordância em limitar o consumo de álcool em 4 doses por semana;
11. Gestação ou lactação;
12. Mulher em idade fértil, mesmo em uso de método contraceptivo;
13. Homens que pretendam ter filhos no período do estudo ou que se recusem a usar método contraceptivo;
14. Necessidade de uso de fármacos que alterem o metabolismo do folato (sulfametoxazol/trimetropim) ou reduzam a excreção tubular (probenecid) ou alergia conhecida a antibióticos que leve a impossibilitar o uso de trimetropim;
15. Indicação atual de uso de metotrexato;
16. Uso crônico de terapia com corticoide ou outros imunossupressores ou imunobiológicos;
17. Derrame pericárdico, derrame pleural ou ascite conhecidos;
18. Insuficiência cardíaca classe III-IV New York Heart Association (NYHA);
19. Expectativa de vida < 1 ano;
20. Qualquer condição que aumente o risco de não aderência ou perda de acompanhamento.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

DESFECHO PRIMÁRIO

Volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela RMC aos 90 dias após o IAMCSST.

DESFECHOS SECUNDÁRIOS

- Desfechos de eficácia:

Volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE); fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE); massa ventricular esquerda (MVE); tamanho do infarto; percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento positivo (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso (10% de redução no VSFVE).

- Desfechos de segurança:

Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia); eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras à vidas ou que resultem em sequelas/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado); parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária); marcadores de lesão hepática (níveis de transaminases), bilirrubinas; função renal (clearance de creatinina – método MDRD).

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Testar, em pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, a hipótese de que o LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e LDE-placebo ao final do seguimento de 3 meses quanto aos seguintes parâmetros, obtidos pela RMC:

- volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE);
- fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE);

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

- massa ventricular esquerda (MVE);
- tamanho do infarto;
- percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento positivo (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso (10% de redução no VSFVE).

2. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e placebo ao final do seguimento de 3 meses com relação às seguintes variáveis de segurança:

- Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia);
- eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras à vidas ou que resultem em sequelas/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado);
- parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária);
- marcadores de lesão hepática (níveis de transaminases), bilirrubinas;
- função renal (clearance de creatinina – método MDRD).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Riscos relacionados a punções venosas para coleta de sangue, infusão de contraste e da medicação do estudo. Raramente pode ocorrer reação adversa ao meio de contraste paramagnético utilizado para a RMC, incluindo náusea, cefaleia, reação alérgica. O metotrexato é uma medicação amplamente utilizada há muitas décadas e seus efeitos colaterais são bem conhecidos. A maioria das reações adversas é reversível se precocemente identificadas e tratadas. Aquelas relatadas com mais frequência são estomatite, diarreia, náuseas, vômitos, inapetência, desconforto abdominal, cefaleia, tonturas, fadiga. Reações menos comuns incluem leucopenia, anemia, plaquetopenia, alteração da função hepática e eventualmente renal, reações alérgicas e alterações de pele. O ácido fólico é bem tolerado, especialmente em baixa dose semanal. Eventualmente, pode causar algum desconforto gastrointestinal e muito raramente reação alérgica. Para maior segurança durante o estudo, serão realizadas avaliações clínicas e exames laboratoriais antes da administração de cada dose da medicação do estudo com o objetivo de evitar e detectar com antecedência qualquer alteração que possa trazer prejuízo à saúde do paciente. Não existem efeitos colaterais relatados com o uso da nanoemulsão lipídica isoladamente, sem medicação

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

**COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA**

Continuação do Parecer: 2.476.710

associada, já que esta partícula funciona apenas como um meio de transporte para a medicação propriamente dita.

BENEFÍCIOS

De acordo com a meta principal do estudo, é esperada melhora significativa no remodelamento ventricular esquerdo com o uso do metotrexate. Se esta hipótese for confirmada, é esperado que o paciente se beneficie importantemente no longo prazo, com diminuição na incidência de insuficiência cardíaca, com consequente melhora na qualidade de vida e sobrevida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se das Respostas ao Parecer Consubstanciado Conep nº 2.446.641, de 19.12.2017.

Este é um estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, "prova de conceito". Pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior serão randomizados com 4±2 dias após o início dos sintomas para receber LDE-ddMTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana por 6 semanas.

- Todos os participantes do estudo receberão adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo.
- Os desfechos primários e secundários levarão em conta os dados obtidos pela RMC, e as amostras sanguíneas para realização dos exames laboratoriais serão coletadas conforme fluxograma anexado pelo pesquisador responsável.
- Os participantes serão submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais "cuidadas" de segurança, conforme fluxograma e plano de visitas pré-determinados.
- Avaliações de segurança incluirão avaliação de efeitos adversos, testes laboratoriais, condições clínicas associadas e procedimentos médicos planejados que necessitem suspensão da medicação do estudo. Estas visitas também incluirão triagem de ocorrência de eventos clínicos de interesse especial.
- Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo baseado nas avaliações clínicas e

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 2.476.710

laboratoriais será seguido de forma padronizada (apresentado no anexo 3).

- Análises interinas pré-especificadas serão realizadas de forma aberta por um investigador independente quando 20% e 50% dos participantes do estudo forem incluídos.

- Não se trata de um estudo internacional.

- Não se trata de um estudo multicêntrico.

- A população do estudo será composta por 50 (cinquenta) participantes.

- Duração aproximada do estudo: 48 meses.

- O Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP – HCFMUSP – é proponente e executor do projeto.

- A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP – participa como patrocinadora / financiadora do projeto (Institucional Principal de Apoio Financeiro).

- Está previsto o uso de placebo nessa pesquisa [O objetivo principal do estudo é comparar, em pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, a hipótese de que o LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC)].

- Também está previsto washout nessa pesquisa (Os pacientes receberão 6 doses da medicação com intervalos semanais e seguidos por mais 6 semanas para avaliação final).

- Segundo o pesquisador responsável, haverá uso de fontes secundárias de dados, a saber: análise de prontuários dos "pacientes" no Instituto do Coração - HCFMUSP.

- Também está prevista a retenção de amostras para armazenamento em banco. Conforme apresentado pelo pesquisador responsável à Plataforma Brasil, algumas amostras de sangue

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

obtidas para esta pesquisa serão armazenadas de acordo com a resolução 441/2011 para análises de complementação deste estudo (caso necessário) e para utilização em pesquisas futuras, sempre realizadas com a aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (sistema CEP/Conep).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Respostas ao PARECER CONSUBSTANCIADO CONEP nº 2.446.641, de 19.12.2017:

1. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e esclarecido intitulado "TCLE_modificacoes_em_destaque.doc" datado de 11/05/2017, seguem as seguintes considerações:

1.1. Solicita-se descrever os procedimentos que serão utilizados na pesquisa, pontuando quais as análises que serão realizadas nas amostras biológicas e o objetivo de cada análise (por exemplo: TGO e TGP – para saber a função do seu fígado), conforme o Item IV.3.a da Resolução CNS nº 466 de 2012.

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Quais são os procedimentos do estudo" (páginas 3-4).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2. De acordo com a Resolução CNS nº 466 de 2012, lê-se: "IV.4.a. - explicitar, quando pertinente, os métodos terapêuticos alternativos existentes". Solicita-se acrescentar esta informação para esclarecer ao participante de pesquisa as alternativas ao tratamento proposto e sua participação ocorra de maneira autônoma.

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Quais são os objetivos deste estudo" (páginas 1-2).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.3. De acordo com a Resolução CNS nº 466 de 2012, lê-se: "IV.3 - O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá conter, obrigatoriamente: b) explicitação dos possíveis desconfortos e riscos decorrentes da participação na pesquisa, além dos benefícios esperados dessa participação e apresentação das providências e cautelas a serem empregadas para evitar e/ou reduzir efeitos e

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 2.476.710

condições adversas que possam causar dano, considerando características e contexto do participante da pesquisa" e "II.6 – dano associado ou decorrente da pesquisa - agravo imediato ou posterior, direto ou indireto, ao indivíduo ou à coletividade, decorrente da pesquisa". Solicita-se incluir no TCLE as providências e cautelas a serem empregadas durante os procedimentos do estudo para evitar e/ou reduzir efeitos e condições adversas, previamente sabidas, que possam causar dano ao participante de pesquisa.

RESPOSTA: Correção em destaque nos itens "Quais são os procedimentos do estudo" (página 4), "Quais são as minhas responsabilidades?" (páginas 4-5) e "Medicações proibidas" (página 7).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.4. Na página 7 de 9, lê-se: "Será dado tratamento médico necessário, caso ocorra eventuais danos, mencionados ou não neste termo, relacionados aos procedimentos do estudo". Solicita-se que seja expresso de modo claro e afirmativo o direito de assistência integral gratuita devido a danos diretos/indiretos e imediatos/tardios pelo tempo que for necessário ao participante da pesquisa, garantido pelo patrocinador (Itens II.3.1 e II.3.2 da Resolução CNS nº 466 de 2012).

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Serei compensado por danos relacionados ao estudo?" (página 8).

ANÁLISE: O pesquisador afirma que "Será dada assistência médica gratuita, caso ocorra eventuais danos, mencionados ou não neste termo, relacionados aos procedimentos deste estudo". Não é possível limitar o tipo assistência ao participante da pesquisa, por exemplo, assistência médica. Dependendo do tipo de dano, é possível que o participante necessite de assistência de outros profissionais, como, por exemplo, da área de Enfermagem, Fisioterapia, Psicologia, Nutrição, Terapia Ocupacional, etc. A Resolução é clara em afirmar que o pesquisador deve prestar assistência integral, e não apenas em uma determinada área. Por outro lado, não é razoável, do ponto de vista ético, limitar o tempo máximo em que será prestada a assistência ao participante de pesquisa em caso de danos. PENDÊNCIA NÃO ATENDIDA.

RESPOSTA: Correção realizada em destaque no TCLE, no item "Serei compensado por danos relacionados ao estudo?" (página 8).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.5. Na página 7 de 9, lê-se: "Não há previsão de reembolso ou qualquer tipo de recompensa financeira por sua participação no estudo". De acordo com a Resolução CNS nº 466 de 2012, lê-se: "IV.3 - O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido deverá conter, obrigatoriamente: g)

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

explicitação da garantia de ressarcimento e como serão cobertas as despesas tidas pelos participantes de pesquisa e dela decorrentes". Sendo assim, solicita-se incluir no TCLE a garantia de ressarcimento e o modo como deverá ser realizado o ressarcimento das despesas do participante da pesquisa e de seu acompanhante, quando necessário (como exemplo pode-se citar o transporte e a alimentação), conforme os itens II.21 e IV.3.g da Resolução CNS nº 466 de 2012.

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Serei pago ou reembolsado para participar deste estudo?" (páginas 8).

ANÁLISE: O pesquisador afirma que "Não há previsão de reembolso ou qualquer tipo de recompensa financeira por sua participação no estudo. Entretanto, o(a) senhor(a) poderá solicitar vale-transporte e vale-alimentação caso seja necessário nos dias em que for ao hospital realizar os procedimentos relacionados ao estudo." Não foi mencionado que esses benefícios devem ser estendidos aos acompanhantes, quando esses são necessários. PENDÊNCIA PARCIALMENTE ATENDIDA.

RESPOSTA: Correção realizada em destaque no TCLE, no item "Serei pago ou reembolsado para participar deste estudo?" (página 8).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.6. Solicita-se explicitar no TCLE o que é o placebo e qual a função do uso do placebo no estudo.

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Qual o número de participantes no estudo e qual é a duração de minha participação?" (página 2).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.7. Solicita-se que conste de maneira clara e afirmativa no TCLE que o pesquisador responsável dará acesso aos resultados de exames e de tratamento ao médico do participante ou ao próprio participante sempre que solicitado e/ou indicado (Item III.2.i da Resolução CNS nº 251 de 1997).

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Quem terá acesso aos meus registros médicos? Minhas informações são confidenciais?" (página 8).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.8. Solicita-se que seja inserido no TCLE que a retirada do consentimento de guarda dos dados genéticos humanos armazenado em bancos deverá ser realizada POR ESCRITO E ASSINADA, e que dar-se-á a qualquer tempo, sem prejuízo ao participante da pesquisa, com validade a partir da data da comunicação da decisão (Itens III.6 e III.7, da Resolução CNS nº 340 de 2004 e Item 10.I da

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

Resolução CNS nº 441 de 2011).

RESPOSTA: Correção em destaque no item "Quais são os procedimentos do estudo" (página 4).

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2. Quantos às informações contidas no arquivo intitulado "ORÇAMENTO.pdf":

2.1. Solicita-se esclarecer a fonte que financiará a droga investigacional, o metotrexato. Se for o SUS, deve ser anexada uma declaração de anuência do gestor responsável em custear a pesquisa.

RESPOSTA: Todos os custos diretamente relacionados ao projeto (inclusive o metotrexato) serão cobertos por meio do Termo de Outorga e Aceitação de Auxílios ("Temático FAPESP" - processo 2014/03742-0), outorgado ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão. Cópia do documento segue em anexo.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.2. Alguns itens do Orçamento serão fornecidos por unidades públicas. Solicita-se declaração de anuências dos respectivos responsáveis.

RESPOSTA: Conforme referido no item 2.1, todos os custos diretamente envolvidos no projeto, incluindo o medicamento em estudo e exames de ressonância magnética, entre outros, serão cobertos por meio do Termo de Outorga e Aceitação de Auxílios ("Temático FAPESP" - processo 2014/03742-0), outorgado ao Prof. Dr. Raul Cavalcante Maranhão. Portanto, não serão fornecidos gratuitamente pelas unidades públicas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

2.3. Solicita-se esclarecer a abreviação DBR.

RESPOSTA: DBR refere-se à empresa M. Di Buono Riato Eireli (CNPJ: 01.154.761/0001-60). Correção em destaque no arquivo ORÇAMENTO_MODIFICAÇÕES_EM_DESTAQUE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_917071.pdf	02/01/2018 16:20:49		Aceito
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_917071.pdf	02/01/2018 16:10:46		Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:09:23	José Carlos Nicolau	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificacoes_em_destaque_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:03:54	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	TERMO_DE_OUTORGA_TEMATICO_DO_RAUL_MARANHÃO.pdf	06/12/2017 14:29:49	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_DEZ_2017.pdf	06/12/2017 14:16:43	José Carlos Nicolau	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_modificacoes_em_destaque_DEZEMBRO_2017.pdf	06/12/2017 14:15:23	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CAPPESQ.pdf	21/08/2017 14:39:43	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PROJETO_modificacoes_em_destaque_agosto_2017.doc	21/08/2017 14:38:55	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	SDC_4508_17_008_CO_ASSINADO.pdf	24/05/2017 08:28:00	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Folha de Rosto	SDC_4508_17_008_FR_ASSINADA.pdf	24/05/2017 08:27:40	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PARECER_PARTE_I.doc	11/05/2017 15:59:38	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	PARECER_SCOC_anonimizado_SDC4508_17_008.pdf	11/05/2017 15:59:02	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	CADASTRO_HC_ONLINE.pdf	11/05/2017 15:58:15	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	ANEXO_A.pdf	11/05/2017 15:57:27	José Carlos Nicolau	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_modificacoes_em_destaque.doc	11/05/2017 15:55:06	José Carlos Nicolau	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASÍLIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 2.476.710

BRASILIA, 30 de Janeiro de 2018

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador)

Endereço: SEPN 510 NORTE, BLOCO A 3º ANDAR, Edifício Ex-INAN - Unidade II - Ministério da Saúde
Bairro: Asa Norte **CEP:** 70.750-521
UF: DF **Município:** BRASILIA
Telefone: (61)3315-5878 **E-mail:** conep@saude.gov.br

Anexo B - Primeira emenda aprovada pela CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Efeito do metotrexato carreado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 6

CAAE: 68743417.5.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.024.395

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1492390_E1.pdf, gerado em 18.12.2019).

INTRODUÇÃO

Inflamação e remodelamento ventricular esquerdo no infarto:

A inflamação é extremamente importante na fisiopatologia da aterosclerose e da aterotrombose(1), assim como no pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSST), onde participa ativamente do processo de remodelamento ventricular esquerdo (RVE).(2)

A reperfusão precoce bem-sucedida é altamente eficaz para limitar a necrose tissular e melhorar desfechos no IAMCSST, mas, em muitos casos, ocorre comprometimento residual da microcirculação, fenômeno também relacionado à inflamação, piora o RVE, mesmo na presença de fluxo TIMI 3.(3) Adicionalmente, a inflamação pode se estender para o miocárdio remoto não infartado, o que também pode contribuir para pior RVE.(4) Como demonstrado por Westman et al. em revisão recente, apesar do tamanho do infarto estar relacionado ao desenvolvimento de RVE positivo ("mau" RVE), alguns pacientes com infartos relativamente pequenos também apresentam

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

esse padrão. Assim sendo, além do tamanho do IAM, diferenças individuais na resposta inflamatória, talvez em parte genética, epigenética, ambiental ou patogenicamente moduladas, também parecem contribuir para o desenvolvimento (ou não) do RVE positivo.(5)

O uso de biomarcadores inflamatórios para prever risco, monitorar tratamentos e guiar terapias tem mostrado bom potencial de aplicabilidade clínica. Por exemplo, estudos em prevenção primária e secundária de doença cardiovascular (DCV) mostraram que indivíduos com menores níveis de proteína C ultrasensível (PCR-us) têm melhores desfechos clínicos do que aqueles com níveis elevados. (6, 7, 8, 9, 10, 11)

Existe, portanto, um racional favorável ao uso de terapias anti-inflamatórias como coadjuvantes às terapias de reperfusão, no sentido de atenuar ou prevenir a disfunção ventricular esquerda pós-IAM.(5)

Metotrexato e as nanoemulsões lipídicas:

Dentre as terapias anti-inflamatórias existentes no mercado, o metotrexato (MTX) é uma das mais utilizadas, principalmente no tratamento das doenças reumatólicas e oncológicas. Este fármaco, comprovadamente, reduz os níveis de vários biomarcadores inflamatórios, como PCR-us, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF)(12), sem afetar negativamente o perfil lipídico, homocisteína, níveis glicêmicos ou pressão arterial.(13) Além disso, existem estudos mostrando que o MTX atua liberando diretamente e indiretamente adenosina,(12,14) o que pode ser especialmente útil em pacientes infartados.(15,16)

Em revisão sistemática com doentes reumatológicos (incluindo artrite reumatóide, psoríase ou poliartrite), o MTX se associou a um risco 21% menor de DCV e 18% menor de IAM, sugerindo que o uso deste medicamento pode reduzir o risco cardiovascular de forma significativa.(17) Para explorar esta opção de tratamento, o estudo CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) foi desenhado para avaliar o efeito do MTX na prevenção secundária de pacientes portadores de doença coronariana estável e alto risco para eventos isquêmicos. Este estudo, patrocinado pelo governo norte-americano (NIH), está em andamento no momento.(18,19)

No sentido de manter o seu efeito benéfico e, ao mesmo tempo, melhor controlar os efeitos colaterais potenciais do MTX(20,21), Moura et al. desenvolveram uma nova formulação utilizando um derivado lipofílico do MTX, o didodecil metotrexato (ddMTX), associado a uma nanoemulsão lipídica (ddMTX-LDE).(22) Nanoemulsões lipídicas (LDE) que se ligam a receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram primeiramente desenvolvidas e estudadas no cenário oncológico por Maranhão et al., que demonstrou que os agentes quimioterápicos associados ao LDE são

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

concentrados nos tecidos com superexpressão de receptores de LDL, diminuindo a toxicidade do tratamento. Esta nanoemulsão já foi testada em pacientes com leucemia aguda(23), mieloma múltiplo(23) e linfoma Hodgkin e não- Hodgkin(25), demonstrando que a LDE é absorvida por células malignas com elevado número de receptores LDL e que pode ser utilizada como veículo para administração de medicações com alta eficiência.

Moura et al. demonstraram que a formulação ddMTX-LDE é estável e sua absorção pelas células neoplásicas in vitro foi melhor do que a preparação comercial do MTX, com menor toxicidade hematológica.(22) Mello et al., testando ddMTX-LDE intravenoso em coelhos, demonstraram que os efeitos anti-inflamatórios na sinóvia das articulações com artrite foram melhores que a preparação comercial do MTX, sendo estes resultados relacionados à maior absorção de MTX pelas articulações quando o medicamento é associado à LDE.(26)

Finalmente, Bulgarelli et al. demonstraram que, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol, o ddMTX-LDE reduziu a formação de lesões ateroscleróticas e a inflamação vascular.(27) Especificamente no cenário de IAM, Maranhão et al., estudando ratos Wistar tratados com LDE isolado, MTX comercial ou ddMTX-LDE, encontraram significativa melhora no RVE e na diminuição do tamanho do infarto no grupo ddMTX-LDE, em comparação com os grupos MTX comercial e LDE isolado.(28) Entretanto, apesar do racional bastante atraente, e das evidências previamente apresentadas, nada se sabe sobre o papel do ddMTX-LD no RVE e tamanho do infarto em humanos, foco principal do presente projeto de investigação.

HIPÓTESE

O LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

METODOLOGIA

Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, "prova de conceito". Pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior serão randomizados com 4 ± 2 dias após o início dos sintomas para receber LDE-ddMTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana por 6 semanas. Todos os participantes do estudo receberão adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral, uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo. Os desfechos primários e os secundários levarão em conta os dados obtidos pela RMC, e as amostras sanguíneas para realização dos exames laboratoriais

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

serão coletadas conforme fluxograma em anexo.

Os pacientes serão submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais cuidadosas de segurança conforme fluxograma e plano de visitas pré-determinados.

Avaliações de segurança incluirão avaliação de efeitos colaterais, testes laboratoriais, condições clínicas associadas e procedimentos médicos planejados que necessitem suspensão da medicação do estudo. Estas visitas também incluirão triagem de ocorrência de eventos clínicos de interesse especial. Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo, baseado nas avaliações clínicas e laboratoriais, será seguido de forma padronizada.

Análises interinas pré-especificadas serão realizadas de forma aberta por um investigador independente quando 20% e 50% dos participantes do estudo forem incluídos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. Idade > 18 anos e < 75 anos;
2. Pacientes com diagnóstico de primeiro IAMCSST de parede anterior do tipo 1 caracterizado por: sintomas isquêmicos, nova elevação do segmento ST em pelo menos 2 derivações contíguas (0.25 mV em homens com menos de 40 anos, 0,25 em homens com < 40 anos e 0.15 mV em mulheres nas derivações V2-V3 e/ou 0.1 mV em outras derivações anteriores ou bloqueio de ramo esquerdo [BRE] novo) e marcadores de necrose miocárdica (troponina e/ou CKMB), com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência.
3. Submetidos à terapia de reperfusão (trombólise e/ou angioplastia).
4. Cineangiocoronariografia demonstrando terapia de reperfusão bem-sucedida (fluxo Thrombolysis in Myocardial Infarction [TIMI] 3) e obstrução residual na artéria "culpada" <50%, independentemente de ter sido submetido ou não a intervenção coronária percutânea.
5. Assintomáticos, sem sinais de descompensação clínica (FC < 100bpm, PAS > 90mmHg, sem medicação vasoativa ou inotrópica parenteral, oximetria de pulso > 95% em ar ambiente).
6. Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. Infarto prévio;
2. Taxa de filtração glomerular estimada < 40 mL/min/1.73 m²;
3. Contraindicações para RMC: presença de marcapasso definitivo, desfibrilador, implante ou fragmentos metálicos cocleares, clipe metálico cerebral, claustrofobia, obesidade (acima de 150kg), impossibilidade de decúbito dorsal, incapacidade de manter 10 segundos de apneia.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 4.024.395

4. História prévia de doença crônica infecciosa (tuberculose, doença fúngica ou HIV);
5. Infecção crônica por vírus das hepatites B ou C;
6. História de pneumonite intersticial, bronquiectasias ou fibrose pulmonar ou radiografia de tórax dos últimos 12 meses com evidências destas afecções;
7. História prévia de neoplasia maligna (não basocelular), doença mieloproliferativa ou linfoproliferativa nos últimos 5 anos;
8. Contagem de leucócitos < 4000/mm³, hematócrito < 32%, ou contagem de plaquetas < 75000/mm³;
9. Alanina aminotransferase (ALT) < 2 vezes o limite superior da normalidade;
10. História de abuso de álcool ou incapacidade/discordância em limitar o consumo de álcool em 4 doses por semana;
11. Gestação ou lactação;
12. Mulher em idade fértil, mesmo em uso de método contraceptivo;
13. Homens que pretendam ter filhos no período do estudo ou que se recusem a usar método contraceptivo;
14. Necessidade de uso de fármacos que alterem o metabolismo do folato (sulfametoxazol/trimetopim) ou reduzam a excreção tubular (probenecid) ou alergia conhecida a antibióticos que leve a impossibilitar o uso de trimetopim;
15. Indicação atual de uso de metotrexato;
16. Uso crônico de terapia com corticoide ou outros imunossupressores ou imunobiológicos;
17. Derrame pericárdico, derrame pleural ou ascite conhecidos;
18. Insuficiência cardíaca classe III-IV New York Heart Association (NYHA);
19. Expectativa de vida < 1 ano;
20. Qualquer condição que aumente o risco de não aderência ou perda de acompanhamento.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVOS PRIMÁRIOS

Testar, em pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, a hipótese de que o LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo, em relação ao remodelamento ventricular esquerdo, aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASILIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 4.024.395

1. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e LDE-placebo ao final do seguimento de 3 meses quanto aos seguintes parâmetros, obtidos pela RMC:

- volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE);
- fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE);
- massa ventricular esquerda (MVE);
- tamanho do infarto;
- percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento positivo (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso (10% de redução no VSFVE).

2. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e placebo ao final do seguimento de 3 meses com relação às seguintes variáveis de segurança:

- Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia);
- eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras a vidas ou que resultem em sequelas/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado);
- parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária);
- marcadores de lesão hepática (níveis de transaminases), bilirrubinas;
- função renal (clearance de creatinina – método MDRD).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:**RISCOS**

Riscos relacionados a punções venosas para coleta de sangue, infusão de contraste e da medicação do estudo. Raramente pode ocorrer reação adversa ao meio de contraste paramagnético utilizado para a RMC, incluindo náusea, cefaleia, reação alérgica. O metotrexato é uma medicação amplamente utilizada há muitas décadas e seus efeitos colaterais são bem conhecidos. A maioria das reações adversas é reversível, se precocemente identificadas e tratadas. Aquelas relatadas com mais frequência são estomatite, diarreia, náuseas, vômitos, inapetência, desconforto abdominal, cefaleia, tonturas, fadiga. Reações menos comuns incluem leucopenia, anemia, plaquetopenia, alteração da função hepática e eventualmente renal, reações alérgicas e alterações de pele. O ácido fólico é bem tolerado, especialmente em baixa dose semanal. Eventualmente, pode causar algum desconforto gastrointestinal e muito raramente reação alérgica. Para maior segurança durante o estudo, serão realizadas avaliações clínicas e exames laboratoriais

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASÍLIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 4.024.395

antes da administração de cada dose da medicação do estudo, com o objetivo de evitar e detectar com antecedência qualquer alteração que possa trazer prejuízo à saúde do paciente. Não existem efeitos colaterais relatados com o uso da nanoemulsão lipídica isoladamente, sem medicação associada, já que esta partícula funciona apenas como um meio de transporte para a medicação propriamente dita.

BENEFÍCIOS

De acordo com a meta principal do estudo, é esperada melhora significativa no remodelamento ventricular esquerdo com o uso do metotrexato. Se esta hipótese for confirmada, é esperado que o paciente se beneficie importantemente no longo prazo, com diminuição na incidência de insuficiência cardíaca, com consequente melhora na qualidade de vida e sobrevida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**EMENDA 01**

As alterações realizadas na presente emenda foram:

1. EXTENSÃO DO CRONOGRAMA – versão de 18 de dezembro de 2019.

Razão principal para alteração: segundo o pesquisador responsável, houve a necessidade de prorrogação do cronograma, para até dezembro de 2021.

2. PROJETO DETALHADO – versão novembro de 2019.

Razão principal para alteração: inclusão/atualização de alguns itens que não constavam na versão anterior do projeto detalhado, a saber:

- No item "Pesquisadoras Executantes" – acréscimo de "Rocío Salsoso Rodríguez".
- No item "Co-Pesquisadores" – acréscimo de "Vanessa Maria Gomes Taques Fonseca Baldo".
- Acréscimo do item "1.3. Adenosina como mediador dos efeitos anti-inflamatórios do metotrexato".
- Acréscimo do item "1.4. Resistência ao metotrexato: Papel de CD39 e CD73 nos linfócitos T reguladores".
- No item "2. Objetivos", subitem "2.3 Análises exploratórias", acréscimo da expressão "(via receptores do ADP)", no item 2.3.3; e inclusão dos seguintes subitens:

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASILIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

"2.3.4 Avaliar, nos grupos ddMTX-LDE e placebo-LDE, os níveis plasmáticos de adenosina antes da primeira dose da medicação do estudo, 2 a 4 dias após a primeira dose e após a última dose da medicação do estudo.

2.3.5 Avaliar, nos grupos ddMTX-LDE e placebo-LDE, os níveis de interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF-alfa), antes da primeira dose da medicação do estudo, 2 a 4 dias após a primeira dose e após a última dose da medicação do estudo. As medidas basais (antes da primeira dose da medicação do estudo) serão comparadas com as medidas de uma população de indivíduos sem infarto prévio do protocolo de pesquisa intitulado "Agregação e antiagregação plaquetária em paciente com doença arterial coronariana" (SDC 4086/12/066; Temático FAPESP 2014/01021-4; CAAE 35079514.8.0000.0068; ClinicalTrials.gov NCT03632785).

2.3.6 Avaliar a agregabilidade plaquetária pela via da ADP (adenosina difosfato) e do e pela via do ácido aracdônico nos grupos ddMTX-LDE e placebo-LDE antes da primeira dose da medicação do estudo, 2 a 4 dias após a primeira dose e após a última dose da medicação do estudo.

2.3.7 Avaliar, nos grupos ddMTX-LDE e placebo-LDE, a população de linfócitos T reguladoras antes da primeira dose, após a última dose da medicação do estudo e ao final do seguimento de 3 meses. A população de linfócitos T reguladores antes da primeira dose da medicação do estudo será comparada com a população dos linfócitos T reguladores provenientes de indivíduos sem infarto prévio do protocolo de pesquisa intitulado "Agregação e antiagregação plaquetária em paciente com doença arterial coronariana" (SDC 4086/12/066; Temático FAPESP 2014/01021-4; CAAE 35079514.8.0000.0068; ClinicalTrials.gov NCT03632785).

2.3.8 Avaliar, nos grupos ddMTX-LDE e placebo-LDE, a expressão e atividade das enzimas CD39 e CD73 dos linfócitos T antes da primeira dose e após a última dose da medicação do estudo e ao final do seguimento de 3 meses."

- Nos critérios de inclusão, acréscimo do item "5.21 Infecção ativa".

- No item "9. Metodologia dos exames", subitem "9.1.1 Multiplate® (Multiple Electrode Aggregometry - Roche)", acréscimo da expressão "e pela via do ácido aracdônico (ASPI-test)."; e inclusão dos seguintes subitens:

"9.1.20. Interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF-); O RNA total será isolado usando reativo de TRIzol (Thermo Fisher). O cDNA será sintetizado por transcrição reversa através do reagente supermix transc reversa supercript (Thermo Fisher). cDNA serão usados para quantificar a expressão de IL-10, IL-6 e TNF- por tempo real PCR usando um SYBR Green PCR Master Mix num Real-Time PCR System. GAPDH será usado como controle interno.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

9.1.21. Adenosina: um volume de 7,5 mL de sangue será coletado diretamente em uma seringa heparinizada de 10 mL contendo 2,5 mL de solução fixadora com inibidores da formação da adenosina (100 micromol/L dipiridamol e 2,5 mol/L EHNA). A mistura do sangue com a solução fixadora ocorre pelo efeito de sucção durante a coleta. Imediatamente após, o sangue é centrifugado (0°C, 3.000 rpm por 20 min), o plasma é então removido e desproteinizado por meio de nova centrifugação para massa molecular de 25.000. A concentração plasmática de adenosina será determinada por técnica de cromatografia líquida isocrática de alta performance (HPLC) e os resultados expressos na unidade nmol/L.

9.1.22. Isolamento dos linfócitos T reguladores. Uma amostra de 20mL de sangue total heparinizada será coletada. As células mononucleares periféricas do sangue (do inglês, peripheral blood mononuclear cells - PBMC) serão separadas por centrifugação em gradiente de densidade de Ficoll. A contagem total de linfócitos será realizada de acordo com métodos padrão por microscopia e as PBMC serão criopreservadas para as análises mais aprofundadas. Posteriormente, os PBMC serão descongelados, lavados e corados com anticorpos monoclonais anti-humanos titulados em camundongos para CD3, CD4 (clone SK3), CD8 (clone TU66), CD73 (clone AD2), CD15 (clone W6D3), CD11b (clone ICRF44), CD11c (clone B-ly6) ou Foxp3 (clone PCH101) e serão conjugadas com FITC, PE, PE-Cy5, PE-Cy7 ou APC. Para a coloração intracelular de Foxp3, as células serão lavadas, fixadas e permeabilizadas com tampão de coloração Foxp3 imediatamente após coloração de superfície. A citometria de fluxo será realizada em FACSCanto-II Citômetro e será utilizado o FlowJo 9.1 software para a análise.

9.1.23. Atividade da CD39 e CD73 nos T reguladores. As atividades das enzimas CD39 e CD73 serão realizadas pelo ensaio verde de malaquita. As células serão incubadas no meio RPMI 1640 contendo 1 mmol/L de ADP em uma placa de 48 poços a 37°C por 1h. Será adicionada uma solução de corante verde malaquita e após 30 min à temperatura ambiente a densidade óptica será medida a 650 nm, e a quantidade de fosfato inorgânico liberado será calculado a partir de uma curva padrão de fosfato preparada em paralelo (10-10.000 pM de K₂PO₄).".

- No item "12. Referências Bibliográficas", acréscimos de novas referências (da referência nº 38 à referência nº 51).

- Inclusão do item "2 Plano de visitas", nas páginas 23 e 24, de 25 (arquivo intitulado "PROJETO_versao_riscada.docx", postado em 18.12.2019).

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

Recomendações:

Verificar item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Trata-se de análise de respostas ao parecer pendente (emenda) nº 3.944.840 emitido pela Conep em 13/04/2020:

1. Apesar das alterações propostas por esta emenda não implicarem em risco adicional aos pacientes/participantes, conforme informado pelo pesquisador responsável (na página 11 de 12, no item 3, do documento "formulario_emenda_novembro_2019.pdf", postado em 18.12.2019), e fundamentado pelo princípio ético da autonomia ao participante da pesquisa (que tem o direito de ser informado acerca de todos os procedimentos a que está sendo submetido no estudo, conforme preconizado no item IV.3.a da Resolução CNS nº 466 de 2012), solicita-se que elas sejam informadas no TCLE, que, conseqüentemente, deverá ser atualizado e apresentado ao sistema CEP/Conep para nova apreciação ética (Resolução CNS nº 466 de 2012, item III.1.a).

RESPOSTA: Segue nova versão do TCLE para análise.

ANÁLISE: Pendência Atendida.

2. Ainda, em conformidade com a Carta n. 17 – SEI/2017-CONEP/SECNS/MS, de 26 de julho de 2017, é preciso que a nova versão do TCLE aprovada pelo Sistema CEP/Conep seja apresentada ao participante de pesquisa já incluído no estudo, para fins de novo consentimento. Cabe ao pesquisador repetir o processo de obtenção do consentimento livre e esclarecido, necessário para que a nova versão do TCLE seja aprovada inclusive, é necessário pontuar a coleta de novas amostras com especial destaque às alterações contidas na nova versão do TCLE, de modo que, ao final do processo, o participante se manifeste quanto a sua anuência ou não frente à continuidade da participação na pesquisa. Solicita-se anexar declaração de compromisso dessa apresentação.

RESPOSTA: Declaração anexada junto a esta carta resposta.

ANÁLISE: Pendência Atendida.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Situação: Emenda aprovada.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1492390_E1.pdf	23/04/2020 16:05:24		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020_DESTAQUE.doc	23/04/2020 16:04:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020.doc	23/04/2020 16:04:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CONEP_3944840_E1.pdf	23/04/2020 16:04:08	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.pdf	23/04/2020 16:03:54	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.docx	23/04/2020 16:03:38	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.pdf	23/04/2020 16:03:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.docx	23/04/2020 16:03:06	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_novembro_2019.pdf	18/12/2019 18:43:37	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_novembro_2019.docx	18/12/2019 18:39:33	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada.docx	18/12/2019 18:39:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cronograma.pdf	18/12/2019 18:36:36	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_novembro_2019.pdf	18/12/2019 18:36:24	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:09:23	José Carlos Nicolau	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificacoes_em_destaque_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:03:54	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	TERMO_DE_OUTORGA_TEMATICO_D R RAUL MARANHÃO.pdf	06/12/2017 14:29:49	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_DEZ_2017.pdf	06/12/2017 14:16:43	José Carlos Nicolau	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_modificacoes_em_destaque_DEZEMBRO_2017.pdf	06/12/2017 14:15:23	José Carlos Nicolau	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.024.395

Outros	RESPOSTA_CAPPESQ.pdf	21/08/2017 14:39:43	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PROJETO_modificacoes_em_destaque agosto_2017.doc	21/08/2017 14:38:55	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	SDC_4508_17_008_CO_ASSINADO.pdf	24/05/2017 08:28:00	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Folha de Rosto	SDC_4508_17_008_FR_ASSINADA.pdf	24/05/2017 08:27:40	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PARECER_PARTE_I.doc	11/05/2017 15:59:38	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	PARECER_SCOC_anonimizado_SDC4 508_17_008.pdf	11/05/2017 15:59:02	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	CADASTRO_HC_ONLINE.pdf	11/05/2017 15:58:15	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	ANEXO_A.pdf	11/05/2017 15:57:27	José Carlos Nicolau	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_modificacoes_em_destaque. doc	11/05/2017 15:55:06	José Carlos Nicolau	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

BRASILIA, 13 de Maio de 2020

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

Anexo C - Segunda emenda aprovada pela CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Efeito do metotrexato carreado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 8

CAAE: 68743417.5.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.619.298

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1651002_E2.pdf de 24/02/2021) e do Projeto Detalhado.

INTRODUÇÃO

Inflamação e remodelamento ventricular esquerdo no infarto: A inflamação é extremamente importante na fisiopatologia da aterosclerose e da aterotrombose(1), assim como no pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSST), onde participa ativamente do processo de remodelamento ventricular esquerdo (RVE).(2) A reperfusão precoce bem-sucedida é altamente eficaz para limitar a necrose tissular e melhorar desfechos no IAMCSST, mas em muitos casos ocorre comprometimento residual da microcirculação, fenômeno também relacionado à inflamação, piora o RVE, mesmo na presença de fluxo TIMI 3.(3) Adicionalmente, a inflamação pode se estender para o miocárdio remoto não infartado, o que também pode contribuir para pior RVE.(4) Como demonstrado por Westman et al em revisão recente, apesar do tamanho do infarto estar relacionado ao desenvolvimento de RVE positivo ("mau" RVE), alguns pacientes com infartos relativamente pequenos também apresentam esse padrão. Assim sendo, além do tamanho do IAM,

Endereço: SRTVN 701, Via W5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

diferenças individuais na resposta inflamatória, talvez em parte genética, epigenética, ambiental ou patogênicamente moduladas, também parecem contribuir para o desenvolvimento (ou não) do RVE positivo.(5) O uso de biomarcadores inflamatórios para predizer risco, monitorar tratamentos e guiar terapias tem mostrado bom potencial de aplicabilidade clínica. Por exemplo, estudos em prevenção primária e secundária de doença cardiovascular (DCV) mostraram que indivíduos com menores níveis de proteína C ultrasensível (PCR-us) têm melhores desfechos clínicos do que aqueles com níveis elevados. (6, 7, 8, 9, 10, 11) Existe, portanto, um racional favorável ao uso de terapias anti-inflamatórias como coadjuvantes às terapias de reperfusão, no sentido de atenuar ou prevenir a disfunção ventricular esquerda pós-IAM.(5) 1.2. Metotrexato e as nanoemulsões lipídicas: Dentre as terapias anti-inflamatórias existentes no mercado, o metotrexato (MTX) é uma das mais utilizadas, principalmente no tratamento das doenças reumatológicas e oncológicas. Este fármaco reduz comprovadamente reduz os níveis de vários biomarcadores inflamatórios, como PCR-us, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF)(12), sem afetar negativamente o perfil lipídico, homocisteína, níveis glicêmicos ou pressão arterial.(13) Além disso, existem estudos mostrando que o MTX atua liberando diretamente e indiretamente adenosina,(12,14) o que pode ser especialmente útil em pacientes infartados.(15,16) Em revisão sistemática com doentes reumatológicos (incluindo artrite reumatóide, psoríase ou poliartrite), o MTX se associou a um risco 21% menor de DCV e 18% menor de IAM, sugerindo que o uso deste medicamento pode reduzir o risco cardiovascular de forma significativa.(17) Para explorar esta opção de tratamento, o estudo CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) foi desenhado para avaliar o efeito do MTX na prevenção secundária de pacientes portadores de doença coronariana estável e alto risco para eventos isquêmicos. Este estudo, patrocinado pelo governo norte-americano (NIH), está em andamento no momento.(18,19) No sentido de manter o seu efeito benéfico e, ao mesmo tempo, melhor controlar os efeitos colaterais potenciais do MTX(20,21) (anexo 4), Moura et al desenvolveram uma nova formulação utilizando um derivado lipofílico do MTX, o didodecil metotrexato (ddMTX), associado a uma nanoemulsão lipídica (ddMTX-LDE).(22) Nanoemulsões lipídicas (LDE) que se ligam a receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram primeiramente desenvolvidas e estudadas no cenário oncológico por Maranhão et al, que demonstrou que os agentes quimioterápicos associados ao LDE são concentrados nos tecidos com superexpressão de receptores de LDL, diminuindo a toxicidade do tratamento. Esta nanoemulsão já foi testada em pacientes com leucemia aguda (23), mieloma múltiplo (23) e linfoma Hodgkin e não Hodgkin (25), demonstrando que a LDE é absorvida por células malignas com elevado número de receptores LDL e que pode ser utilizada como veículo para administração de medicações com

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

alta eficiência. Moura et al demonstraram que a formulação ddMTX-LDE é estável e sua absorção pelas células neoplásicas in vitro foi melhor do que a preparação comercial do MTX, com menor toxicidade hematológica. (22) Mello et al, testando ddMTX-LDE intravenoso em coelhos, demonstraram que os efeitos anti-inflamatórios na sinóvia das articulações com artrite foram melhores que a preparação comercial do MTX, sendo esses resultados relacionados à maior absorção de MTX pelas articulações quando o medicamento é associado à LDE. (26) Finalmente, Bulgarelli et al demonstraram que, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol, o ddMTX-LDE reduziu a formação de lesões ateroscleróticas e a inflamação vascular. (27) Especificamente no cenário de IAM, Maranhão et al, estudando ratos Wistar tratados com LDE isolado, MTX comercial ou ddMTX-LDE, encontraram significativa melhora no RVE e na diminuição do tamanho do infarto no grupo ddMTX-LDE, em comparação com os grupos MTX comercial e LDE isolado. (28) Entretanto, apesar do racional bastante atraente, e das evidências previamente apresentadas, nada se sabe sobre o papel do ddMTX-LD no RVE e tamanho do infarto em humanos, foco principal do presente projeto de investigação.

HIPÓTESE

O LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

METODOLOGIA

Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, "prova de conceito". Pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior serão randomizados com 4±2 dias após o início dos sintomas para receber LDE-ddMTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana por 6 semanas. Todos os participantes do estudo receberão adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo. Os desfechos primários e secundários levarão em conta os dados obtidos pela RMC, e as amostras sanguíneas para realização dos exames laboratoriais serão coletadas conforme fluxograma em anexo. Os pacientes serão submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais cuidadosas de segurança conforme fluxograma e plano de visitas pré-determinados. Avaliações de segurança incluirão avaliação de efeitos colaterais, testes laboratoriais, condições clínicas associadas e procedimentos médicos planejados que necessitem suspensão da medicação do estudo. Estas visitas também incluirão triagem de ocorrência de eventos clínicos de interesse

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

especial. Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo baseado nas avaliações clínicas e laboratoriais será seguido de forma padronizada. Análises interinas pré-especificadas serão realizadas de forma aberta por um investigador independente quando 20% e 50% dos participantes do estudo forem incluídos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. Idade > 18 anos e < 75 anos;
2. Pacientes com diagnóstico de primeiro IAMCSST de parede anterior do tipo 1 caracterizado por: sintomas isquêmicos, nova elevação do segmento ST em pelo menos 2 derivações contíguas (0.25 mV em homens com menos de 40 anos, 0,25 em homens com < 40 anos e 0.15 mV em mulheres nas derivações V2-V3 e/ou 0.1 mV em outras derivações anteriores ou bloqueio de ramo esquerdo [BRE] novo) e marcadores de necrose miocárdica (troponina e/ou CKMB) com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência.
3. Submetidos à terapia de reperfusão (trombólise e/ou angioplastia).
4. Cineangiogramas demonstrando terapia de reperfusão bem-sucedida (fluxo Thrombolysis in Myocardial Infarction [TIMI] 3) e obstrução residual na artéria "culpada" <50%, independentemente de ter sido submetido ou não a intervenção coronária percutânea.
5. Assintomáticos, sem sinais de descompensação clínica (FC < 100bpm, PAS > 90mmHg, sem medicação vasoativa ou inotrópica parenteral, oximetria de pulso > 95% em ar ambiente).
6. Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. Infarto prévio;
2. Taxa de filtração glomerular estimada < 40 mL/min/1.73 m²;
3. Contraindicações para RMC: presença de marcapasso definitivo, desfibrilador, implante ou fragmentos metálicos cocleares, clipe metálico cerebral, claustrofobia, obesidade (acima de 150kg), impossibilidade de decúbito dorsal, incapacidade de manter 10 segundos de apnéia.
4. História prévia de doença crônica infecciosa (tuberculose, doença fúngica ou HIV);
5. Infecção crônica por vírus da hepatite B ou C;
6. História de pneumonite intersticial, bronquiectasias ou fibrose pulmonar ou radiografia de tórax dos últimos 12 meses com evidências destas afecções;
7. História prévia de neoplasia maligna (não basocelular), doença mieloproliferativa ou

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 4.619.298

linfoproliferativa nos últimos 5 anos;

8. Contagem de leucócitos < 4000/mm³, hematócrito < 32%, ou contagem de plaquetas < 75000/mm³;
9. Alanina aminotransferase (ALT) < 2 vezes o limite superior da normalidade;
10. História de abuso de álcool ou incapacidade/discordância em limitar o consumo de álcool em 4 doses por semana;
11. Gestação ou lactação;
12. Mulher em idade fértil, mesmo em uso de método contraceptivo;
13. Homens que pretendam ter filhos no período do estudo ou que se recusem a usar método contraceptivo;
14. Necessidade de uso de fármacos que alterem o metabolismo do folato (sulfametoxazol/trimetopim) ou reduzam a excreção tubular (probenecid) ou alergia conhecida a antibióticos que leve a impossibilitar o uso de trimetopim;
15. Indicação atual de uso de metotrexato;
16. Uso crônico de terapia com corticoide ou outros imunossuppressores ou imunobiológicos;
17. Derrame pericárdico, derrame pleural ou ascite conhecidos;
18. Insuficiência cardíaca classe III-IV New York Heart Association (NYHA);
19. Expectativa de vida < 1 ano;
20. Qualquer condição que aumente o risco de não aderência ou perda de acompanhamento.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Testar, em pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, a hipótese de que o LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e LDE-placebo ao final do seguimento de 3 meses quanto aos seguintes parâmetros, obtidos pela RMC:
 - volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE);
 - fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE);
 - massa ventricular esquerda (MVE);
 - tamanho do infarto;

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASILIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

- percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento positivo (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso (10% de redução no VSFVE).

2. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e placebo ao final do seguimento de 3 meses com relação às seguintes variáveis de segurança:

- Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia);
- eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras à vidas ou que resultem em sequelas/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado);
- parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária);
- marcadores de lesão hepática (níveis de transaminases), bilirrubinas; função renal (clearance de creatinina – método MDRD).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Riscos relacionados a punções venosas para coleta de sangue, infusão de contraste e da medicação do estudo. Raramente pode ocorrer reação adversa ao meio de contraste paramagnético utilizado para a RMC, incluindo náusea, cefaléia, reação alérgica. O metotrexato é uma medicação amplamente utilizada há muitas décadas e seus efeitos colaterais são bem conhecidos. A maioria das reações adversas são reversíveis se precocemente identificadas e tratadas. Aquelas relatadas com mais frequência são estomatite, diarreia, náuseas, vômitos, inapetência, desconforto abdominal, cefaleia, tonturas, fadiga. Reações menos comuns incluem leucopenia, anemia, plaquetopenia, alteração da função hepática e eventualmente renal, reações alérgicas e alterações de pele. O ácido fólico é bem tolerado, especialmente em baixa dose semanal. Eventualmente pode causar algum desconforto gastrointestinal e muito raramente reação alérgica. Para maior segurança durante o estudo, serão realizadas avaliações clínicas e exames laboratoriais antes da administração de cada dose da medicação do estudo com o objetivo de evitar e detectar com antecedência qualquer alteração que possa trazer prejuízo à saúde do paciente. Não existem efeitos colaterais relatados com o uso da nanoemulsão lipídica isoladamente, sem medicação associada, já que esta partícula funciona apenas como um meio de transporte para a medicação propriamente dita.

BENEFÍCIOS

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

De acordo com a meta principal do estudo, é esperada melhora significativa no remodelamento ventricular esquerdo com o uso do metotrexate. Se esta hipótese for confirmada, é esperado que o paciente se beneficie importantemente no longo prazo, com diminuição na incidência de insuficiência cardíaca, com consequente melhora na qualidade de vida e sobrevida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

EMENDA 2

1. Projeto Detalhado – versão de 20/10/2020

Razão principal para alteração:

Inclusão de análises interinas pré-especificadas para análise de segurança foram realizadas de forma aberta por um investigador/estatístico independente com 20% e 50% dos participantes do estudo, que recomendou a continuação do estudo conforme o protocolo. Ambas já foram enviadas ao Comitê de Ética em Pesquisa e aprovadas. Entretanto, devido à atual pandemia causada pelo vírus SARS-CoV-2, que dificultou a continuidade do recrutamento dos pacientes, uma terceira análise interina, com 70% dos pacientes, será realizada pelo mesmo investigador/estatístico independente, para avaliar possível interrupção do estudo por critérios pré-estabelecidos de eficácia ou futilidade.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos na emenda proposta.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Situação: Emenda aprovada.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1651002_E2.pdf	24/02/2021 11:15:11		Aceito
Outros	carta_emenda2.pdf	24/02/2021 11:14:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda2.docx	24/02/2021 11:14:41	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda_outubro_2020.doc	22/10/2020 18:30:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada_2020.docx	20/10/2020 10:37:49	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_outubro_2020.docx	20/10/2020 10:34:24	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_outubro_2020.pdf	20/10/2020 10:33:59	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020_DESTAQUE.doc	23/04/2020 16:04:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020.doc	23/04/2020 16:04:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CONEP_3944840_E1.pdf	23/04/2020 16:04:08	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.pdf	23/04/2020 16:03:54	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.docx	23/04/2020 16:03:38	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.pdf	23/04/2020 16:03:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.docx	23/04/2020 16:03:06	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_novembro_2019.pdf	18/12/2019 18:43:37	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_novembro_2019.docx	18/12/2019 18:39:33	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada.docx	18/12/2019 18:39:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cronograma.pdf	18/12/2019 18:36:36	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

Outros	carta_emenda_novembro_2019.pdf	18/12/2019 18:36:24	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:09:23	José Carlos Nicolau	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificacoes_em_destaque_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:03:54	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	TERMO_DE_OUTORGA_TEMATICO_D R RAUL MARANHÃO.pdf	06/12/2017 14:29:49	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_DEZ_2017.pdf	06/12/2017 14:16:43	José Carlos Nicolau	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_modificacoes_em_destaque DEZEMBRO 2017.pdf	06/12/2017 14:15:23	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CAPESQ.pdf	21/08/2017 14:39:43	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PROJETO_modificacoes_em_destaque agosto 2017.doc	21/08/2017 14:38:55	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	SDC_4508_17_008_CO_ASSINADO.pdf	24/05/2017 08:28:00	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Folha de Rosto	SDC_4508_17_008_FR_ASSINADA.pdf	24/05/2017 08:27:40	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PARECER_PARTE_I.doc	11/05/2017 15:59:38	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	PARECER_SCOC_anonimizado_SDC4508_17_008.pdf	11/05/2017 15:59:02	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	CADASTRO_HC_ONLINE.pdf	11/05/2017 15:58:15	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	ANEXO_A.pdf	11/05/2017 15:57:27	José Carlos Nicolau	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_modificacoes_em_destaque.doc	11/05/2017 15:55:06	José Carlos Nicolau	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.619.298

BRASILIA, 29 de Março de 2021

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

Anexo D - Terceira emenda aprovada pela CONEP

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Efeito do metotrexato carreado por nanoemulsão lipídica no remodelamento ventricular esquerdo pós infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST.

Pesquisador: José Carlos Nicolau

Área Temática: A critério do CEP

Versão: 9

CAAE: 68743417.5.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: FUNDACAO DE AMPARO A PESQUISA DO ESTADO DE SAO PAULO

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.195.734

Apresentação do Projeto:

As informações contidas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram obtidas dos documentos contendo as Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1844827_E3.pdf de 18/10/2021) e do Projeto Detalhado.

INTRODUÇÃO

Inflamação e remodelamento ventricular esquerdo no infarto: A inflamação é extremamente importante na fisiopatologia da aterosclerose e da aterotrombose(1), assim como no pós-infarto agudo do miocárdio com supradesnível do segmento ST (IAMCSST), onde participa ativamente do processo de remodelamento ventricular esquerdo (RVE).(2) A reperfusão precoce bem-sucedida é altamente eficaz para limitar a necrose tissular e melhorar desfechos no IAMCSST, mas em muitos casos ocorre comprometimento residual da microcirculação, fenômeno também relacionado à inflamação, piora o RVE, mesmo na presença de fluxo TIMI 3.(3) Adicionalmente, a inflamação pode se estender para o miocárdio remoto não infartado, o que também pode contribuir para pior RVE.(4) Como demonstrado por Westman et al em revisão recente, apesar do tamanho do infarto estar relacionado ao desenvolvimento de RVE positivo ("mau" RVE), alguns pacientes com infartos relativamente pequenos também apresentam esse padrão. Assim sendo, além do tamanho do IAM,

Endereço: SRTVN 701, Via W5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

diferenças individuais na resposta inflamatória, talvez em parte genética, epigenética, ambiental ou patogênicamente moduladas, também parecem contribuir para o desenvolvimento (ou não) do RVE positivo.(5) O uso de biomarcadores inflamatórios para prever risco, monitorar tratamentos e guiar terapias tem mostrado bom potencial de aplicabilidade clínica. Por exemplo, estudos em prevenção primária e secundária de doença cardiovascular (DCV) mostraram que indivíduos com menores níveis de proteína C ultrasensível (PCR-us) têm melhores desfechos clínicos do que aqueles com níveis elevados. (6, 7, 8, 9, 10, 11) Existe, portanto, um racional favorável ao uso de terapias anti-inflamatórias como coadjuvantes às terapias de reperfusão, no sentido de atenuar ou prevenir a disfunção ventricular esquerda pós-IAM.(5).

Metotrexato e as nanoemulsões lipídicas:

Dentre as terapias anti-inflamatórias existentes no mercado, o metotrexato (MTX) é uma das mais utilizadas, principalmente no tratamento das doenças reumatológicas e oncológicas. Este fármaco reduz comprovadamente reduz os níveis de vários biomarcadores inflamatórios, como PCR-us, interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral (TNF) (12), sem afetar negativamente o perfil lipídico, homocisteína, níveis glicêmicos ou pressão arterial.(13) Além disso, existem estudos mostrando que o MTX atua liberando diretamente e indiretamente adenosina,(12,14) o que pode ser especialmente útil em pacientes infartados.(15,16) Em revisão sistemática com doentes reumatológicos (incluindo artrite reumatóide, psoríase ou poliartrite), o MTX se associou a um risco 21% menor de DCV e 18% menor de IAM, sugerindo que o uso deste medicamento pode reduzir o risco cardiovascular de forma significativa.(17) Para explorar esta opção de tratamento, o estudo CIRT (Cardiovascular Inflammation Reduction Trial) foi desenhado para avaliar o efeito do MTX na prevenção secundária de pacientes portadores de doença coronariana estável e alto risco para eventos isquêmicos. Este estudo, patrocinado pelo governo norte-americano (NIH), está em andamento no momento.(18,19) No sentido de manter o seu efeito benéfico e, ao mesmo tempo, melhor controlar os efeitos colaterais potenciais do MTX(20,21) (anexo 4), Moura et al desenvolveram uma nova formulação utilizando um derivado lipofílico do MTX, o didodecil metotrexato (ddMTX), associado a uma nanoemulsão lipídica (ddMTX-LDE).(22) Nanoemulsões lipídicas (LDE) que se ligam a receptores de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram primeiramente desenvolvidas e estudadas no cenário oncológico por Maranhão et al, que demonstrou que os agentes quimioterápicos associados ao LDE são concentrados nos tecidos com superexpressão de receptores de LDL, diminuindo a toxicidade do tratamento. Esta nanoemulsão já foi testada em pacientes com leucemia aguda(23), mieloma múltiplo(23) e linfoma Hodgkin e nãoHodgkin(25), demonstrando que a LDE é absorvida por células malignas com elevado número

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

de receptores LDL e que pode ser utilizada como veículo para administração de medicações com alta eficiência. Moura et al demonstraram que a formulação ddMTX-LDE é estável e sua absorção pelas células neoplásicas in vitro foi melhor do que a preparação comercial do MTX, com menor toxicidade hematológica.(22) Mello et al, testando ddMTX-LDE intravenoso em coelhos, demonstraram que os efeitos anti-inflamatórios na sinóvia das articulações com artrite foram melhores que a preparação comercial do MTX, sendo esses resultados relacionados à maior absorção de MTX pelas articulações quando o medicamento é associado à LDE.(26) Finalmente, Bulgarelli et al demonstraram que, em coelhos alimentados com dieta rica em colesterol, o ddMTX-LDE reduziu a formação de lesões ateroscleróticas e a inflamação vascular.(27) Especificamente no cenário de IAM, Maranhão et al, estudando ratos Wistar tratados com LDE isolado, MTX comercial ou ddMTX-LDE, encontraram significativa melhora no RVE e na diminuição do tamanho do infarto no grupo ddMTX-LDE, em comparação com os grupos MTX comercial e LDE isolado.(28) Entretanto, apesar do racional bastante atraente, e das evidências previamente apresentadas, nada se sabe sobre o papel do ddMTX-LD no RVE e tamanho do infarto em humanos, foco principal do presente projeto de investigação.

HIPÓTESE

O LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

METODOLOGIA

Estudo prospectivo, randomizado, duplo-cego, controlado por placebo, "prova de conceito". Pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior serão randomizados com 4 ± 2 dias após o início dos sintomas para receber LDE-ddMTX 40 mg/m² IV ou LDE-placebo (partícula de LDE sem medicação associada) uma vez por semana por 6 semanas. Todos os participantes do estudo receberão adicionalmente ácido fólico 5 mg via oral uma vez por semana, um dia após a administração da medicação do estudo. Os desfechos primários e secundários levarão em conta os dados obtidos pela RMC, e as amostras sanguíneas para realização dos exames laboratoriais serão coletadas conforme fluxograma em anexo. Os pacientes serão submetidos a avaliações clínicas e laboratoriais cuidadosas de segurança conforme fluxograma e plano de visitas pré-determinados.

Avaliações de segurança incluirão avaliação de efeitos colaterais, testes laboratoriais, condições clínicas associadas e procedimentos médicos planejados que necessitem suspensão da medicação

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

do estudo. Estas visitas também incluirão triagem de ocorrência de eventos clínicos de interesse especial. Um algoritmo de suspensão da medicação do estudo baseado nas avaliações clínicas e laboratoriais será seguido de forma padronizada. Análises interinas pré-especificadas serão realizadas de forma aberta por um investigador independente quando 20% e 50% dos participantes do estudo forem incluídos.

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

1. Idade > 18 anos e < 75 anos;
2. Pacientes com diagnóstico de primeiro IAMCSST de parede anterior do tipo 1 caracterizado por: sintomas isquêmicos, nova elevação do segmento ST em pelo menos 2 derivações contíguas (0.25 mV em homens com menos de 40 anos, 0,25 em homens com < 40 anos e 0.15 mV em mulheres nas derivações V2–V3 e/ou 0.1 mV em outras derivações anteriores ou bloqueio de ramo esquerdo [BRE] novo) e marcadores de necrose miocárdica (troponina e/ou CKMB) com pelo menos um valor acima do percentil 99 do limite superior de referência.
3. Submetidos à terapia de reperfusão (trombólise e/ou angioplastia).
4. Cineangiocoronariografia demonstrando terapia de reperfusão bem-sucedida (fluxo Thrombolysis in Myocardial Infarction [TIMI] 3) e obstrução residual na artéria “culpada” <50%, independentemente de ter sido submetido ou não a intervenção coronária percutânea.
5. Assintomáticos, sem sinais de descompensação clínica (FC < 100bpm, PAS > 90mmHg, sem medicação vasoativa ou inotrópica parenteral, oximetria de pulso > 95% em ar ambiente).
6. Concordância em assinar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

1. Infarto prévio;
2. Taxa de filtração glomerular estimada < 40 mL/min/1.73 m²;
3. Contraindicações para RMC: presença de marcapasso definitivo, desfibrilador, implante ou fragmentos metálicos cocleares, clipe metálico cerebral, claustrofobia, obesidade (acima de 150kg), impossibilidade de decúbito dorsal, incapacidade de manter 10 segundos de apnéia.
4. História prévia de doença crônica infecciosa (tuberculose, doença fúngica ou HIV);
5. Infecção crônica por vírus da hepatite B ou C;
6. História de pneumonite intersticial, bronquiectasias ou fibrose pulmonar ou radiografia de tórax dos últimos 12 meses com evidências destas afecções;
7. História prévia de neoplasia maligna (não basocelular), doença mieloproliferativa ou

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA

Continuação do Parecer: 5.195.734

linfoproliferativa nos últimos 5 anos;

8. Contagem de leucócitos < 4000/mm³, hematócrito < 32%, ou contagem de plaquetas < 75000/mm³;
9. Alanina aminotransferase (ALT) < 2 vezes o limite superior da normalidade;
10. História de abuso de álcool ou incapacidade/discordância em limitar o consumo de álcool em 4 doses por semana;
11. Gestação ou lactação;
12. Mulher em idade fértil, mesmo em uso de método contraceptivo;
13. Homens que pretendam ter filhos no período do estudo ou que se recusem a usar método contraceptivo;
14. Necessidade de uso de fármacos que alterem o metabolismo do folato (sulfametoxazol/trimetopim) ou reduzam a excreção tubular (probenecid) ou alergia conhecida a antibióticos que leve a impossibilitar o uso de trimetopim;
15. Indicação atual de uso de metotrexato;
16. Uso crônico de terapia com corticoide ou outros imunossupressores ou imunobiológicos;
17. Derrame pericárdico, derrame pleural ou ascite conhecidos;
18. Insuficiência cardíaca classe III-IV New York Heart Association (NYHA);
19. Expectativa de vida < 1 ano;
20. Qualquer condição que aumente o risco de não aderência ou perda de acompanhamento.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Testar, em pacientes com primeiro IAMCSST de parede anterior, a hipótese de que o LDE-ddMTX é superior ao LDE-placebo em relação ao remodelamento ventricular esquerdo aos 3 meses de seguimento, levando em conta o volume diastólico final do ventrículo esquerdo (VDFVE) avaliado pela ressonância nuclear magnética cardíaca (RMC).

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

1. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e LDE-placebo ao final do seguimento de 3 meses quanto aos seguintes parâmetros, obtidos pela RMC:
 - volume sistólico final do ventrículo esquerdo (VSFVE);
 - fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE);
 - massa ventricular esquerda (MVE);
 - tamanho do infarto;

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar**Bairro:** Asa Norte**CEP:** 70.719-040**UF:** DF**Município:** BRASILIA**Telefone:** (61)3315-5877**E-mail:** conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

- percentual de indivíduos que apresentaram remodelamento positivo (aumento de 20% ou mais no VDFVE) e reverso (10% de redução no VSFVE).

2. Comparação entre os grupos LDE-ddMTX e placebo ao final do seguimento de 3 meses com relação às seguintes variáveis de segurança:

- Sintomas clinicamente significativos (estomatite nova ou persistente, vômitos, diarreia, tosse acompanhada de febre sem causa determinada e dispneia);
- eventos adversos sérios (definidos como: eventos que resultem em morte, que necessitem hospitalização ou prolongamento da hospitalização, situações ameaçadoras à vidas ou que resultem em sequelas/incapacidade persistente, ou ainda que resulte em má-formação ou anomalia congênita; outros eventos considerados sérios de acordo com julgamento médico apropriado);
- parâmetros hematológicos (hemoglobina, hematócrito, leucócitos, contagem plaquetária);
- marcadores de lesão hepática (níveis de transaminases), bilirrubinas; função renal (clearance de creatinina – método MDRD).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Riscos relacionados a punções venosas para coleta de sangue, infusão de contraste e da medicação do estudo. Raramente pode ocorrer reação adversa ao meio de contraste paramagnético utilizado para a RMC, incluindo náusea, cefaléia, reação alérgica. O metotrexato é uma medicação amplamente utilizada há muitas décadas e seus efeitos colaterais são bem conhecidos. A maioria das reações adversas são reversíveis se precocemente identificadas e tratadas. Aquelas relatadas com mais frequência são estomatite, diarreia, náuseas, vômitos, inapetência, desconforto abdominal, cefaleia, tonturas, fadiga. Reações menos comuns incluem leucopenia, anemia, plaquetopenia, alteração da função hepática e eventualmente renal, reações alérgicas e alterações de pele. O ácido fólico é bem tolerado, especialmente em baixa dose semanal. Eventualmente pode causar algum desconforto gastrointestinal e muito raramente reação alérgica. Para maior segurança durante o estudo, serão realizadas avaliações clínicas e exames laboratoriais antes da administração de cada dose da medicação do estudo com o objetivo de evitar e detectar com antecedência qualquer alteração que possa trazer prejuízo à saúde do paciente. Não existem efeitos colaterais relatados com o uso da nanoemulsão lipídica isoladamente, sem medicação associada, já que esta partícula funciona apenas como um meio de transporte para a medicação propriamente dita.

BENEFÍCIOS

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

De acordo com a meta principal do estudo, é esperada melhora significativa no remodelamento ventricular esquerdo com o uso do metotrexate. Se esta hipótese for confirmada, é esperado que o paciente se beneficie importantemente no longo prazo, com diminuição na incidência de insuficiência cardíaca, com consequente melhora na qualidade de vida e sobrevida.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

EMENDA 3

Justificativa: Atualização das análises estatísticas. Estas alterações não implicam em aumento de risco para os participantes de pesquisa.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide campo "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram observados óbices éticos na emenda proposta.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação da emenda proposta ao projeto de pesquisa.

Situação: Emenda aprovada.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1844827_E3.pdf	18/10/2021 15:56:55		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_setembro_2021.docx	18/10/2021 15:56:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada_setembro_2021.docx	18/10/2021 15:56:13	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_setembro_2021.pdf	18/10/2021 15:56:03	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

Outros	formulario_emenda_setembro_2021.doc	18/10/2021 15:55:49	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_PCAR_ALINE_4508.pdf	18/10/2021 15:55:36	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_PCAR_ALINE_4508.docx	18/10/2021 15:55:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda2.pdf	24/02/2021 11:14:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda2.docx	24/02/2021 11:14:41	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	RELATORIO_PARCIAL_OUTUBRO_2020.doc	22/10/2020 18:31:10	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	form_emenda_outubro_2020.doc	22/10/2020 18:30:57	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda.docx	22/10/2020 18:30:45	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada_2020.docx	20/10/2020 10:37:49	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_outubro_2020.docx	20/10/2020 10:34:24	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	relatorio_parcial_outubro_2020.pdf	20/10/2020 10:34:13	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_outubro_2020.pdf	20/10/2020 10:33:59	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_outubro_2020.pdf	20/10/2020 10:33:48	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020_DESTAQUE.doc	23/04/2020 16:04:52	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_versao_2_abril_2020.doc	23/04/2020 16:04:32	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	PB_PARECER_CONSUBSTANCIADO_CONEP_3944840_E1.pdf	23/04/2020 16:04:08	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.pdf	23/04/2020 16:03:54	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	declaracao_reconsentimento.docx	23/04/2020 16:03:38	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.pdf	23/04/2020 16:03:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_resposta_4508_conep.docx	23/04/2020 16:03:06	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	formulario_emenda_novembro_2019.	18/12/2019	Elaine Lagonegro	Aceito

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

Outros	pdf	18:43:37	Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_novembro_2019.docx	18/12/2019 18:39:33	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_versao_riscada.docx	18/12/2019 18:39:23	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	cronograma.pdf	18/12/2019 18:36:36	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	carta_emenda_novembro_2019.pdf	18/12/2019 18:36:24	Elaine Lagonegro Santana Martinho	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:09:23	José Carlos Nicolau	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_modificacoes_em_destaque_JANEIRO_2018.pdf	02/01/2018 16:03:54	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	TERMO_DE_OUTORGA_TEMATICO_D R RAUL MARANHÃO.pdf	06/12/2017 14:29:49	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CONEP_DEZ_2017.pdf	06/12/2017 14:16:43	José Carlos Nicolau	Aceito
Orçamento	ORCAMENTO_modificacoes_em_destaque_DEZEMBRO_2017.pdf	06/12/2017 14:15:23	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	RESPOSTA_CAPPESQ.pdf	21/08/2017 14:39:43	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PROJETO_modificacoes_em_destaque_agosto_2017.doc	21/08/2017 14:38:55	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	SDC_4508_17_008_CO_ASSINADO.pdf	24/05/2017 08:28:00	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Folha de Rosto	SDC_4508_17_008_FR_ASSINADA.pdf	24/05/2017 08:27:40	GRAZIELE PEREIRA LUNAS	Aceito
Outros	PARECER_PARTE_I.doc	11/05/2017 15:59:38	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	PARECER_SCOC_anonimizado_SDC4508_17_008.pdf	11/05/2017 15:59:02	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	CADASTRO_HC_ONLINE.pdf	11/05/2017 15:58:15	José Carlos Nicolau	Aceito
Outros	ANEXO_A.pdf	11/05/2017 15:57:27	José Carlos Nicolau	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	PROJETO_modificacoes_em_destaque.doc	11/05/2017 15:55:06	José Carlos Nicolau	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 5.195.734

BRASILIA, 08 de Janeiro de 2022

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASILIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br