

Estudo Pré-Clínico de Stent com Polímero Biodegradável e Liberação Abluminal de Sirolimus

Preclinical Study of a Biodegradable Polymer-based Stent with Abluminal Sirolimus Release

Celso Kiyochi Takimura¹, Carlos Augusto Homem M. Campos¹, Pedro Henrique Magalhães Craveiro Melo¹, Julliana Carvalho Campos¹, Paulo Sampaio Gutierrez¹, Thiago Francisco Costa Borges², Luciano Curado², Spero Penha Morato³, Francisco Rafael Martins Laurindo¹, Pedro Alves Lemos Neto¹

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (USP)¹; Scitech Produtos Médicos Ltda²; Lasertools Tecnologia Ltda³, São Paulo, SP – Brasil

Resumo

Fundamento: Stents recobertos com polímeros bioabsorvíveis e fármacos apenas na face abluminal podem ser mais seguros que stents farmacológicos com polímeros permanentes.

Objetivo: Relatar os resultados experimentais com o stent Inspiron®, um stent recoberto com polímero bioabsorvível e com liberação de sirolimus apenas da face abluminal, recentemente aprovado para uso clínico.

Métodos: Foram implantados 45 stents nas artérias coronárias de 15 porcos e, no 28º dia pós-implante, foram obtidos os resultados angiográficos, de ultrassonografia intracoronária e de histomorfologia. Cinco grupos foram avaliados: Grupo I (nove stents sem recobrimento); Grupo II (nove stents com polímero bioabsorvível nas faces luminal e abluminal); Grupo III (oito stents com polímero bioabsorvível na face abluminal); Grupo IV (nove stents com polímero bioabsorvível e sirolimus nas faces luminal e abluminal); e Grupo V (dez stents com polímero bioabsorvível e sirolimus na face abluminal exclusivamente).

Resultados: Observamos, para os Grupos I, II, III, IV e V respectivamente: percentual de estenose de 29 ± 20; 36 ± 14; 33 ± 19; 22 ± 13 e 26 ± 15 (p = 0,443); perda luminal tardia (em mm) de 1,02 ± 0,60; 1,24 ± 0,48; 1,11 ± 0,54; 0,72 ± 0,44 e 0,78 ± 0,39 (p = 0,253); área neointimal (em mm²) de 2,60 ± 1,99; 2,74 ± 1,51; 2,74 ± 1,30; 1,30 ± 1,14 e 0,97 ± 0,84 (p = 0,001; Grupos IV e V versus Grupos I, II e III) e percentual de área neointimal de 35 ± 25; 38 ± 18; 39 ± 19; 19 ± 18 e 15 ± 12 (p = 0,001; Grupo IV e V versus Grupo I, II e III). Os escores de injúria e inflamação foram baixos e sem diferenças entre os grupos.

Conclusão: O stent Inspiron® foi seguro e inibiu significativamente a hiperplasia neointimal observada no 28º dia pós-implante em artérias coronárias porcinas. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(5):432-440)

Palavras-chave: Stents farmacológicos; Sirolimo; Epidemiologia experimental.

Abstract

Background: Bioabsorbable polymer stents with drug elution only on the abluminal surface may be safer than durable polymer drug-eluting stents.

Objective: To report the experimental findings with the Inspiron™ stent – a bioabsorbable polymer-coated stent with sirolimus release from the abluminal surface only, recently approved for clinical use.

Methods: 45 stents were implanted in the coronary arteries of 15 pigs. On day 28 after implantation, angiographic, intracoronary ultrasonographic and histomorphological data were collected. Five groups were analyzed: Group I (nine bare-metal stents); Group II (nine coated with bioabsorbable polymer on the luminal and abluminal surfaces); Group III (eight stents coated with bioabsorbable polymer on the abluminal surface); Group IV (nine stents with bioabsorbable polymer and sirolimus on the luminal and abluminal surfaces); and Group V (ten stents with bioabsorbable polymer and sirolimus only on the abluminal surface).

Results: The following results were observed for Groups I, II, III, IV and V, respectively: percentage stenosis of 29 ± 20; 36 ± 14; 33 ± 19; 22 ± 13 and 26 ± 15 (p = 0.443); late lumen loss (in mm) of 1.02 ± 0.60; 1.24 ± 0.48; 1.11 ± 0.54; 0.72 ± 0.44 and 0.78 ± 0.39 (p = 0.253); neointimal area (in mm²) of 2.60 ± 1.99; 2.74 ± 1.51; 2.74 ± 1.30; 1.30 ± 1.14 and 0.97 ± 0.84 (p = 0.001; Groups IV and V versus Groups I, II and III); and percentage neointimal area of 35 ± 25; 38 ± 18; 39 ± 19; 19 ± 18 and 15 ± 12 (p = 0.001; Groups IV and V versus Groups I, II and III). Injury and inflammation scores were low and with no differences between the groups.

Conclusion: The Inspiron™ stent proved to be safe and was able to significantly inhibit the neointimal hyperplasia observed on day 28 after implantation in porcine coronary arteries. (Arq Bras Cardiol. 2014; 102(5):432-440)

Keywords: Drug-Eluting Stents; Sirolimus; Epidemiology, Experimental.

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

Correspondência: Celso Kiyochi Takimura •

Avenida Açocê 92, apto. 162, Indianópolis. CEP 04075-020, São Paulo, SP – Brasil

E-mail: celсотakimura@hotmail.com, celсотakimura@incor.usp.br

Artigo recebido em 23/09/13; revisado em 04/11/13; aceito em 13/11/13.

DOI: 10.5935/abc.20140044

Introdução

Nos anos 2002 e 2003, os stents coronários farmacológicos Cypher® (Cordis Corp, Miami Lakes, Estados Unidos) e Taxus® (Boston Scientific, Natick, Estados Unidos) foram aprovados para uso clínico e proporcionaram um grande avanço no tratamento percutâneo de estenoses coronárias, pela acentuada redução da incidência de reestenose intra-stent e da necessidade de nova revascularização do vaso-alvo^{1,2}. Entretanto, a ocorrência de casos de trombose tardia e muito tardia^{3,4} após o implante dessas próteses foi um alerta para a segurança desses stents farmacológicos.

Entre os múltiplos processos fisiopatológicos apontados como predisponentes para trombose tardia e muito tardia, destacam-se: retardo na endotelização das hastes, remodelamento positivo com má-aposição adquirida, disfunção endotelial e reação inflamatória pela presença de polímero durável⁵.

Objetivando suplantiar as limitações e os eventos adversos relacionados aos stents de primeira geração, foram desenvolvidos diversos novos stents farmacológicos. Esses novos stents apresentam variações na constituição da liga metálica, na espessura das hastes, no desenho das malhas, no polímero carreador do fármaco, na classe e dose do fármaco ou no local de liberação deste da superfície do stent.

Formulou-se a hipótese de que, após a liberação do fármaco e a degradação do polímero biodegradável, permaneceria na parede arterial apenas a plataforma metálica (à semelhança de um stent não farmacológico), reduzindo as taxas de trombose tardia e muito tardia desses stents, sem prejuízo da eficácia antirreestenótica. A liberação de fármaco apenas da superfície abluminal (superfície do stent em contato com a parede do vaso) poderia ainda prevenir o retardo da endotelização das hastes do stent, outro dos mecanismos apontados como causadores de trombose.

Este trabalho apresentou dados pré-clínicos do stent Inspiron® (Scitech® Produtos Médicos Ltda., Goiânia, Goiás, Brasil), um stent constituído de liga cromo-cobalto L605, com revestimento apenas na face abluminal de uma mistura de sirolimus e polímero biodegradável, recentemente aprovado para uso clínico.

Neste estudo experimental, compararam-se os resultados observados em artérias coronárias porcinas, por meio de avaliação angiográfica, ultrassonografia intracoronária e histomorfologia, no 28º dia pós-implante do stent Inspiron®, stents com polímero e com sirolimus, nas faces luminal e abluminal, e com stents não farmacológicos.

Métodos

Aspectos Éticos

Este protocolo de estudo foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa Institucional e foi realizado em conformidade com as normas de Boas Práticas Laboratoriais.

Espécie Animal

Foram utilizados 15 porcos juvenis provenientes de granja comercial, não ateroscleróticos, com peso médio de

28,9 kg (26 a 31,5 kg), que receberam ácido acetilsalicílico (200 mg) e clopidogrel (300 mg) por via oral 1 dia antes dos implantes dos stents.

Stents

Foram utilizados 45 stents pré-montados produzidos pela Scitech® Produtos Médicos Ltda., com diâmetros de 2,5, 3,0 e 3,5 mm e comprimento de 19 mm. Esses stents são constituídos de liga cromo-cobalto L605, com hastes finas (espessura de 75 μm), formando anéis com células curtas (1,1 mm) ligadas entre si por hastes de 65 μm ⁶.

À exceção de 9 stents sem nenhum recobrimento por polímero ou fármaco, os demais stents foram recobertos com polímero biodegradável, uma mistura de poli(ácido lático) e poli(ácido lático-co-ácido glicólico), com espessura dessa camada de 5 μm e degradação em água e em CO₂ em 6 a 9 meses (Figura 1).

O fármaco utilizado nos stents farmacológicos foi o sirolimus, com liberação de 60% na primeira semana e de 90% em até 4 semanas. A dose de sirolimus utilizada foi de 8,8 μg por mm de stent, no stent liberador de sirolimus da superfície luminal e abluminal do stent, ou de 4,4 μg por mm de stent, no stent liberador de sirolimus da face abluminal exclusivamente (stent Inspiron®).

Assim, cinco tipos de stents foram avaliados: nove stents sem recobrimento por polímero ou fármaco antiproliferativo (Grupo I, stent não farmacológico); nove stents recobertos com polímero bioabsorvível nas faces luminal e abluminal (Grupo II); oito stents recobertos com polímero bioabsorvível na face abluminal (Grupo III); nove stents recobertos com polímero bioabsorvível e sirolimus nas faces luminal e abluminal (Grupo IV) e dez stents recobertos com polímero bioabsorvível e sirolimus na face abluminal exclusivamente (Grupo V, stent Inspiron®).

Procedimento de Implante dos Stents

Foram administradas pré-medicações anestésicas por via intramuscular (ketamina 3 mg/kg e midazolam 0,5 mg/kg). A seguir, após infusão endovenosa de tiopental, os animais foram submetidos à entubação orotraqueal, ventilação mecânica, manutenção do plano anestésico com isoflurano e monitoração dos seus ritmos cardíacos, frequências cardíacas e da saturação de oxigênio.

A via de acesso arterial para o procedimento de implante dos stents foi obtida por dissecação da artéria femoral comum, com punção arterial sob visão direta e inserção de introdutor valvulado 6 French. Sob fluoroscopia (Philips BV – Holanda), manipulou-se um cateter terapêutico Judkins Right 6 French para cateterização seletiva das artérias coronárias, o que foi seguido da administração intracoronária de nitroglicerina (200 μg) e de uma angiografia coronária, na projeção oblíqua anterior esquerda com 45 graus.

A seguir, foi inserido fio-guia 0,014 polegadas Choice PT® (Boston Scientific, Natick, Estados Unidos), com posicionamento da extremidade distal na artéria coronária-alvo, e, seguindo sorteio prévio, foi realizado implante de um stent por artéria, preferencialmente em um segmento arterial com poucos ramos

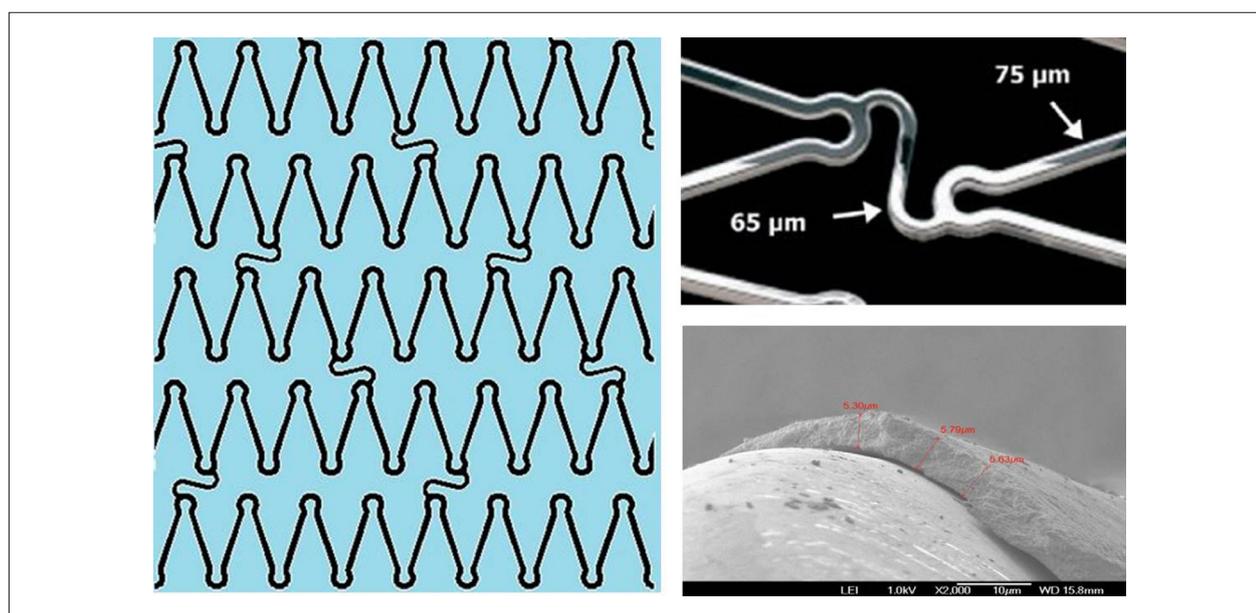


Figura 1 – Detalhe da malha metálica (imagem esquerda), espessuras das hastes (imagem superior direita) e do polímero (imagem inferior direita) do stent coronário de cromo-cobalto L605 (Scitech® Produtos Médicos Ltda., Goiânia, Goiás, Brasil).

laterais e sem redução luminal acentuada, com pressão de liberação suficiente para alcançar uma relação diâmetro do balão de liberação do stent: artéria de 1,1:1 (Tabela 1).

Pós-Procedimento

Após o procedimento, os animais foram observados quanto à recuperação anestésica e receberam antibioticoterapia profilática por via intramuscular com benzilpenicilina 1.200.000 unidades e gentamicina 40 mg. Foram extubados quando bem acordados, enviados para baias individuais e, posteriormente, receberam ração comercial para suínos em crescimento (Cooper®, São José dos Campos, São Paulo, Brasil) e água *ad libitum*. Por 28 dias, foram administradas medicações antiagregantes plaquetárias (ácido acetilsalicílico 100 mg ao dia e clopidogrel 75 mg ao dia) por via oral; além disso receberam cuidados veterinários diários, com observação e anotação do estado geral do animal, nível de atividade física, aceitação da dieta, presença de febre, assim como diagnóstico e tratamento de eventual infecção da ferida operatória.

No 28º dia pós-implante, os animais retornaram ao laboratório de experimentação animal e foram submetidos à angiografia coronária de controle com angiografia coronária quantitativa e a estudo com ultrassonografia intracoronária. A eutanásia foi realizada com aprofundamento do grau de anestesia e injeção letal endovenosa de cloreto de potássio (30 a 40 mL).

Processamento Histológico

Após eutanásia e toracotomia paramediana esquerda, os corações de cada animal foram cuidadosamente removidos, com mínima manipulação, para evitar compressão extrínseca dos stents, e o sangue das cavidades cardíacas foi lavado com

água potável e soro fisiológico 0,9%, sendo realizada em seguida infusão de solução de formol a 10% na raiz da aorta sob pressão de 100 mmHg por 30 minutos. Os segmentos arteriais contendo os stents foram dissecados do tecido adjacente, removidos e colocados em solução de formol a 10% por 24 horas e, a seguir, em álcool absoluto a 70%. Esses segmentos arteriais contendo os stents foram desidratados em soluções alcoólicas, incluídos em resinas plásticas de metacrilato e, subsequentemente, submetidos a cortes transversais (espessura média de 3,5 µm), com lâmina de tungstênio, em micrótomo apropriado (RM 2265, Leica, Alemanha).

Angiografia Coronária Quantitativa

Todas as angiografias dos implantes dos stents e dos reestudos de 28 dias foram analisadas por meio de angiografia coronária quantitativa *off-line* com *software* CASS II (Pie Medical, Maastrich, Holanda), com a determinação dos Diâmetros Luminais Mínimos (DLM, em mm), Diâmetros de Referência (DR, em mm), estenoses angiográficas percentuais (%) e perdas luminais tardias (em mm).

Ultrassonografia intracoronária

Foram utilizados cateteres de ultrassonografia intracoronária Atlantis® SR Pro de 40 MHz (Boston Scientific, Natick, MA, Estados Unidos) com recuo automatizado a 0,5 mm/s. As imagens adquiridas foram analisadas por meio do *software* de mensuração do próprio equipamento de ultrassonografia intracoronária (Ilab®, Boston Scientific, Natick, MA, Estados Unidos), com determinação, por planimetria, das áreas lúminas (em mm²), áreas dos stents (em mm²), áreas de hiperplasia neointimal (em mm²) e áreas de hiperplasia neointimal percentuais (%).

Tabela 1 – Dados individuais do procedimento de implante dos stents

Animal número	Peso (kg)	Artéria coronária-alvo	Grupo	Tamanho do stent (mm) (diâmetro x comprimento)	Pressão de implantação (ATM)
1	31	CD	I	3,0 x 19	8
		CX	III	3,0 x 19	6
		DA	IV	3,0 x 19	7
2	30	CD	I	3,0 x 19	10
		CX	III	3,5 x 19	8
		DA	II	3,0 x 19	10
3	30	CD	II	3,0 x 19	6
		CX	IV	3,5 x 19	10
		DA	III	3,0 x 19	5
4	31,5	CD	IV	3,0 x 19	8
		CX	I	3,0 x 19	6
		DA	II	3,0 x 19	9
5	28,5	CD	IV	3,0 x 19	10
		CX	II	3,0 x 19	6
		DA	III	3,0 x 19	7
6	30	CD	III	3,0 x 19	10
		CX	V	3,0 x 19	10
		DA	I	3,5 x 19	10
7	30	CD	V	3,0 x 19	10
		CX	I	3,0 x 19	12
		DA	III	3,0 x 19	11
8	26	CD	III	3,0 x 19	10
		CX	V	2,5 x 19	8
		DA	I	2,5 x 19	9
9	31	CD	V	2,5 x 19	6
		CX	II	3,0 x 19	7
		DA	IV	2,5 x 19	10
10	27,5	CD	II	3,0 x 19	8
		CX	I	3,5 x 19	8
		DA	V	2,5 x 19	7
11	26,5	CD	IV	3,0 x 19	12
		CX	IV	3,5 x 19	10
		DA	V	3,0 x 19	10
12	27,5	CD	III	3,5 x 19	7
		CX	V	3,0 x 19	5
		DA	II	3,5 x 19	10
13	27	CD	II	3,5 x 19	8
		CX	IV	3,0 x 19	7
		DA	V	3,0 x 19	11
14	26,5	CD	V	3,0 x 19	11
		CX	III	3,5 x 19	5
		DA	I	3,0 x 19	7
15	31,5	CD	I	3,0 x 19	10
		CX	IV	3,5 x 19	10
		DA	V	3,5 x 19	10

CD: artéria coronária direita; CX: artéria circunflexa; DA: artéria descendente anterior; Grupo I: stents sem recobrimento; Grupo II: stents com polímero bioabsorvível nas faces luminal e abluminal; Grupo III: stents com polímero bioabsorvível abluminal; Grupo IV: stents com polímero bioabsorvível e sirolimus nas faces luminal e abluminal; Grupo V: stents com polímero bioabsorvível e sirolimus na face abluminal exclusivamente.

Histomorfologia

Foram obtidas três lâminas histológicas por terço de segmento de stent (proximal, médio e distal). Essas lâminas foram coradas com hematoxilina-eosina e pela coloração de Verhoeff para fibras elásticas; posteriormente, elas foram submetidas a análises histomorfológicas. Essas análises foram realizadas sem o conhecimento da identificação do tipo de stent implantado e foram utilizados escores semiquantitativos para avaliação de inflamação⁷, deposição de fibrina⁸ e grau de injúria⁹.

Análise Estatística

Os dados quantitativos são apresentados como média ± Desvio Padrão (DP) ou mediana. Após verificada a normalidade dos dados, efetuaram-se o cálculo da Análise de Variância Simples (*one-way ANOVA*), para comparação das médias entre os grupos, e análise *post-hoc*, quando detectadas diferenças estatisticamente significantes entre esses grupos. Foi utilizado o *software Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)*, versão 20.0, para análise dos dados, e foi adotado um nível de significância de 5%.

Resultados

A implantação dos stents teve sucesso em todas as artérias coronárias-alvo, sem ocorrência de complicações nos procedimentos de implante dos stents, assim como na recuperação imediata pós-procedimento.

Um animal (número 10) morreu no sexto dia pós-procedimento de implante de stents. Estudo anatomopatológico do coração concluiu como a causa do óbito um infarto agudo do miocárdio inferior por oclusão da artéria coronária direita, na qual fora implantado um stent recoberto com polímero biodegradável na face luminal e abluminal (stent do Grupo II). As outras artérias - a descendente anterior e a circunflexa - e os stents aí implantados apresentavam-se pérvios e sem trombos intraluminais firmemente aderentes. Essa morte precoce determinou uma taxa de mortalidade precoce de 6,6% (um animal em 15), representativa, de acordo com um Consenso de Investigadores (taxa deve ser menor que 10%), de “boa técnica de implante e tecnologia do stent”¹⁰.

No 28º dia pós-implante dos stents, a angiografia coronária de controle, nos animais sobreviventes, revelou segmentos arteriais com stents pérvios e sem imagem sugestiva de trombo.

Os achados de angiografia coronária quantitativa, ultrassonografia intracoronária e de histopatologia são descritos na Tabela 2.

Angiografia Coronária Quantitativa

À angiografia coronária quantitativa, as artérias coronárias suínas apresentaram, no procedimento de implantação dos stents, um diâmetro de referência em torno de 2,6 mm. A pressão de insuflação para implantação dos stents foi, em média, de 8,5 ATM (5 a 12 ATM; $p = 0,348$), alcançando-se a relação balão:artéria de 1,1:1 para causar uma injúria à parede arterial de grau moderado.

Na angiografia coronária quantitativa do controle angiográfico no 28º dia pós-procedimento, não se observou nenhuma diferença estatisticamente significativa entre os grupos.

Ultrassonografia Intracoronária

À ultrassonografia intracoronária, observou-se, no 28º dia pós-implante, uma adequada aposição das hastes dos stents em todos os casos. Observou-se, ainda, uma área da luz (mm^2) maior nos stents farmacológicos (Grupos IV e V), em relação aos stents controle (Grupos I, II e III), com significância estatística ($p = 0,001$). De forma semelhante, a área neointimal e a área neointimal porcentual foram significativamente menores nesses stents farmacológicos em relação aos stents-controle ($p = 0,001$ para as comparações dos Grupos IV e V individualmente versus Grupos I, II e III), conforme demonstrado na Figura 2.

A hiperplasia neointimal observada nos stents recobertos com polímero bioabsorvível e sirolimus apenas na face abluminal (Grupo V, stent Inspiron®) foi equivalente à observada nos stents com o mesmo recobrimento nas faces luminal e abluminal do stent (Grupo IV), com ausência de significância estatística ($p = 0,913$).

Histomorfologia

Os escores de injúria e inflamação foram baixos e sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p = 0,999$). A Figura 3 mostra imagens histológicas representativas da hiperplasia neointimal no 28º dia pós-implante de um stent não farmacológico (à esquerda) e de um stent farmacológico (à direita) em artérias.

Discussão

Estudos pré-clínicos em animais de experimentação para desenvolvimento e aperfeiçoamento de stents coronários são importantes, para se obter uma ideia inicial do desempenho mecânico, perfil de segurança e eficácia dos stents, além de constituírem estudos requeridos por agências reguladoras para aprovação desses dispositivos para uso clínico¹¹.

Apesar de todos os benefícios dos stents farmacológicos de primeira geração, que revolucionaram o tratamento da doença coronária aterosclerótica, cresceram os questionamentos sobre a segurança em longo prazo desses dispositivos, sobretudo em relação à trombose tardia¹².

Após a inicial redução do número de implante de stents farmacológicos, observada à época, novos esforços se concentraram no desenvolvimento de stents, com a utilização de diferentes ligas metálicas (cromo-cobalto e platina-cromo), novos polímeros biocompatíveis ou biodegradáveis, e a incorporação de novos fármacos (everolimus, zotarolimus e biolimus A9), visando aumentar a segurança desses dispositivos.

Apesar da fisiopatologia da trombose de stents ser multifatorial, várias evidências animais e clínicas apontaram para a presença de polímeros duráveis como desencadeadora de inflamação e retardo no reparo vascular¹³. Essas evidências impulsionaram o desenvolvimento de stents com polímeros biodegradáveis e também stents bioabsorvíveis.

Observou-se, no presente trabalho pré-clínico em artérias coronárias porcinas, que os stents recobertos com polímero biodegradável e com liberação de sirolimus apenas de sua face abluminal (Grupo V, stent Inspiron®) apresentaram, quantitativamente, hiperplasia neointimal semelhante a dos stents recobertos com polímero e sirolimus em suas

Tabela 2 – Resultados de angiografia coronária quantitativa, ultrassonografia intracoronária e histomorfologia

	Grupo					Valor de p
	I (N = 9)	II (N = 9)	III (N = 8)	IV (N = 9)	V (N = 10)	
DR basal (mm)	2,59 ± 0,21	2,62 ± 0,20	2,63 ± 0,30	2,61 ± 0,24	2,50 ± 0,43	0,901
Pressão de insuflação do balão (ATM)	9,0 ± 1,9	8,0 ± 1,7	7,6 ± 2,2	9,3 ± 1,6	9,0 ± 2,1	0,348
Diâmetro do balão (mm)	2,76 ± 0,27	2,79 ± 0,24	2,89 ± 0,32	2,83 ± 0,19	2,71 ± 0,26	0,716
Relação balão/artéria	1,06 ± 0,04	1,06 ± 0,08	1,10 ± 0,07	1,09 ± 0,10	1,10 ± 0,10	0,845
DLM ao final do procedimento (mm)	2,67 ± 0,23	2,74 ± 0,22	2,69 ± 0,21	2,73 ± 0,22	2,59 ± 0,26	0,749
DR na angiografia de controle (mm)	2,30 ± 0,30	2,49 ± 0,32	2,39 ± 0,30	2,48 ± 0,22	2,54 ± 0,30	0,470
DLM na angiografia de controle (mm)	1,64 ± 0,61	1,59 ± 0,45	1,57 ± 0,49	1,95 ± 0,43	1,85 ± 0,36	0,379
Estenose porcentual (%)	29 ± 20	36 ± 14	33 ± 19	22 ± 13	26 ± 15	0,443
Perda luminal tardia (mm)	1,02 ± 0,60	1,24 ± 0,48	1,11 ± 0,54	0,72 ± 0,44	0,78 ± 0,39	0,253
Área da luz (mm ²)	4,49 ± 2,16	4,29 ± 1,53	4,33 ± 1,40	5,77 ± 3,32	6,03 ± 2,18	0,001*
Área do vaso (mm ²)	6,95 ± 1,40	6,90 ± 1,27	6,97 ± 0,87	7,00 ± 1,10	7,00 ± 1,58	0,305
Área do stent (mm ²)	7,09 ± 1,40	7,03 ± 1,27	7,07 ± 0,87	7,07 ± 1,10	7,00 ± 1,70	0,676
Área neointimal (mm ²)	2,60 ± 1,99	2,74 ± 1,51	2,74 ± 1,30	1,30 ± 1,14	0,97 ± 0,84	0,001*
Área neointimal porcentual (%)	35 ± 25	38 ± 18	39 ± 19	19 ± 18	15 ± 12	0,001*
Inflamação (mediana) (mín-máx)	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	1 (0 - 3)	1 (0 - 1)	1 (0 - 1)	0,999
Injúria Schwartz (mediana) (mín-máx)	1 (0 - 3)	1 (0 - 2)	1 (1 - 3)	1 (0 - 2)	1 (0 - 2)	0,999

* Grupo IV versus Grupos I, II, III e Grupo V versus Grupos I, II, III.

Grupo I: stents sem recobrimento; Grupo II: stents com polímero bioabsorvível nas faces luminal e abluminal; Grupo III: stents com polímero bioabsorvível abluminal; Grupo IV: stents com polímero bioabsorvível e sirolimus nas faces luminal e abluminal; Grupo V: stents com polímero bioabsorvível e sirolimus na face abluminal exclusivamente; DR: diâmetro de referência; DLM: diâmetro luminal mínimo.

faces luminal e abluminal (Grupo IV). Os grupos com stents liberadores de sirolimus (Grupos IV e V) apresentaram menor área neointimal em relação aos stents sem liberação de fármaco (Grupos I, II e III). Não se observou diferença entre os cinco grupos quanto aos escores de injúria e inflamação, evidenciando que o polímero bioabsorvível e o fármaco antiproliferativo utilizados foram seguros e efetivos.

O stent farmacológico Inspiron® tem como característica ser constituído por liga metálica de cromo-cobalto L605, recobrimento com polímero biodegradável e eluição de sirolimus da face abluminal exclusivamente. Possivelmente, por ser recoberto com polímero biodegradável, possui maior segurança que os stents com polímeros permanentes. Em meta-análise de estudos clínicos randomizados comparando as taxas de trombose de stent até 4 anos após o uso dos stents farmacológicos com polímero biodegradável Yukon (Translumina, Hechingen, Alemanha) e Biomatrix® Flex (Biosensors International, Singapura) com o stent com polímero permanente Cypher® (Cordis Corp, Miami Lakes, FL, Estados Unidos), os stents com polímero biodegradável apresentaram menos trombose definitiva do stent, menos desfechos clínicos e menor revascularização da lesão-alvo do que o stent Cypher® com polímero durável¹⁴.

Estudo experimental em modelo porcino, que comparou a atividade endotelial e escores de inflamação em animais submetidos a implante do stent Nobori®, recoberto com polímero bioabsorvível e biolimus apenas em sua face abluminal, com o stent Cypher®, obteve aumento do

relaxamento endotelial, redução da produção de ânion superóxido e menor inflamação nos segmentos coronários no grupo que recebeu o stent Nobori®¹⁵.

Recentes dados, entretanto, sugerem que a presença de polímero durável *per se* não determina maior risco de trombose tardia^{16,17}. Em estudo experimental, Kolandaivelu e cols.¹⁸ observaram que stent farmacológico com polímero durável (XIENCE) apresentou menor trombogenicidade precoce que stent metálico correspondente (Multilink Vision), ou seja, o recobrimento com polímero e fármaco conferiu efeito protetor para a trombogenicidade aguda. Fatores como o desenho do stent e espessura das hastes emergem como outros importantes fatores na predisposição de trombose do stent.

Vários outros stents foram desenvolvidos utilizando polímero biodegradável e fármacos antiproliferativos liberados apenas da face abluminal. Exemplos desses stents são os stents de aço inoxidável Nobori® (Terumo Corp., Japão) e o Biomatrix® (Biosensors International, Singapura) com eluição de biolimus A9, o stent de aço inoxidável JACTAX® (Boston Scientific, Natick, Estados Unidos) com eluição de paclitaxel, e o stent de cromo-cobalto Firehawk® (MicroPort Medical, Shangai, China) com eluição de sirolimus.

O stent Inspiron® tem sido estudado extensivamente em animais de experimentação com resultados comparáveis a outros stents farmacológicos no que se refere a segurança, endotelização de hastes dos stents e hiperplasia neointimal^{19,20}.

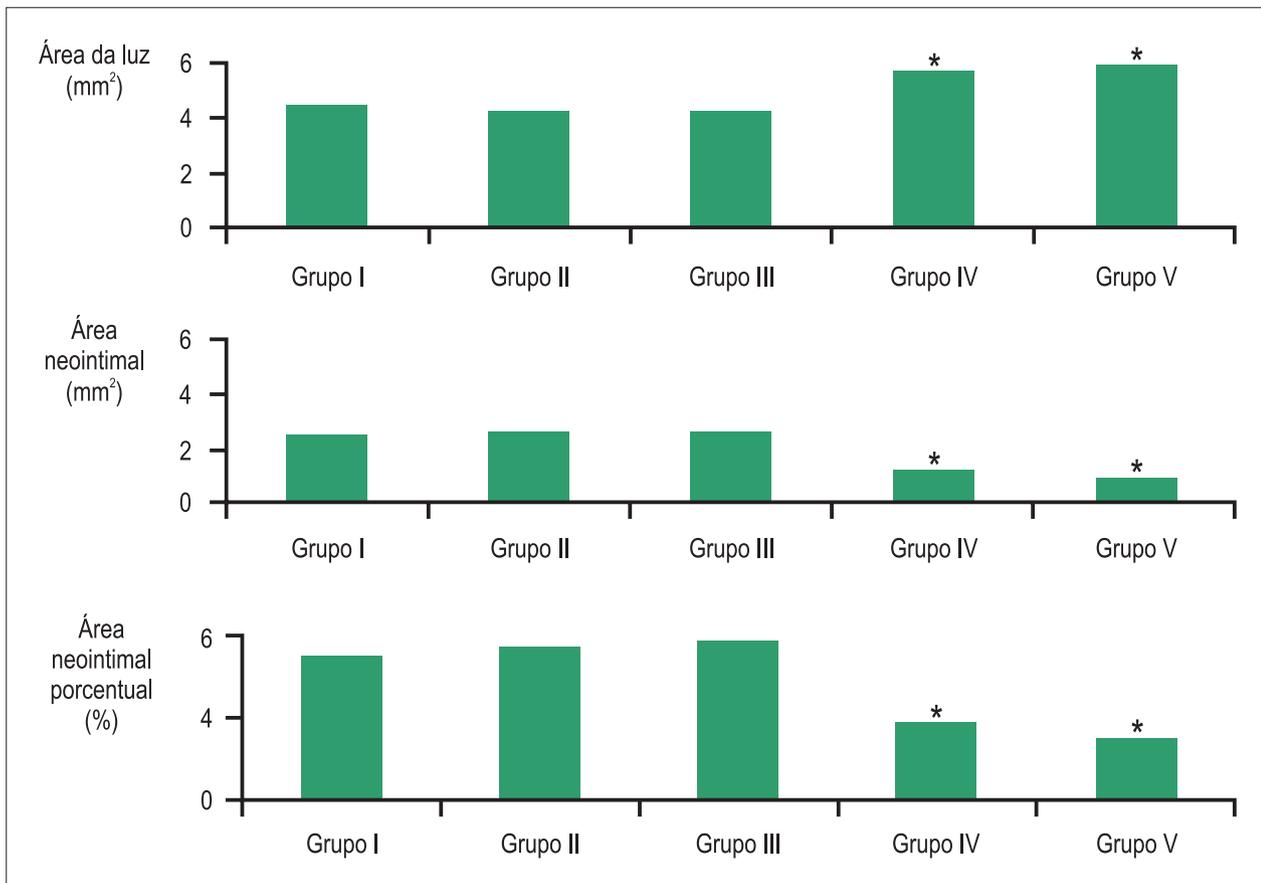


Figura 2 – Área do lúmen (mm²), área neointimal (mm²) e área neointimal percentual (%) observada nos grupos experimentais I a V. * Valor de p < 0,05 para Grupo IV versus Grupo I, II e III e Grupo V versus Grupo I, II e III.

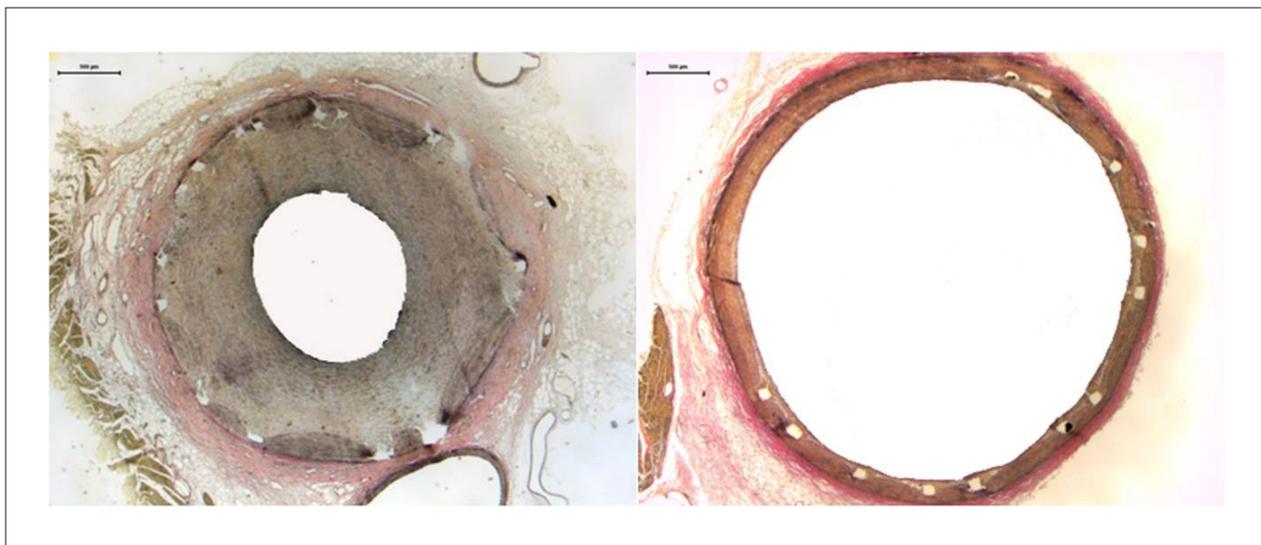


Figura 3 – Cortes transversais de artérias coronárias porcinas aos 28 dias de implante de stent bare metal (Grupo I, à esquerda) e de stent recoberto com polímero biodegradável e eluição de sirolimus da face abluminal (Grupo V) (à direita). Aumento de 40X.

Estudos clínicos já estão em andamento para avaliar a eficácia desse novo stent farmacológico. Os resultados clínicos iniciais do stent Inspiron® (INSPIRON I) revelaram uma boa resposta angiográfica, com perda luminal tardia de 0,18 mm, ultrassonográfica com porcentagem de obstrução neointimal de 8,2% e revascularização do vaso-alvo de 0%.

Estudo clínico randomizado (DESTINY) está em curso comparando o stent Inspiron® com o stent Biomatrix® e prevê a inclusão de 165 pacientes randomizados 2:1 (stent Inspiron® versus Biomatrix®).

Limitações

O presente estudo utilizou como modelo artérias coronárias porcinas saudáveis, o que pode não representar a evolução em segmento vascular com doença aterosclerótica. Modelos animais ateroscleróticos foram desenvolvidos em coelhos e porcos, entretanto, são modelos ainda pouco utilizados em estudos pré-clínicos para o desenvolvimento e o aperfeiçoamento de stents coronários.

A ultrassonografia intracoronária foi utilizada apenas no controle de 28 dias pós-implante dos stents com o objetivo de avaliar a hiperplasia neointimal intra-stent, não tendo sido utilizado este método para guiar a implantação dos stents. No entanto, os achados de angiografia coronária quantitativa, apesar das conhecidas limitações do método da angiografia, revelaram que os stents foram implantados adequadamente (relação balão:artéria de 1,1:1) e os achados de ultrassonografia intracoronária mostraram adequada aposição das hastes dos stents em todos os casos.

Tomografia de coerência óptica é um método amplamente utilizado em pesquisa de validação pré-clínica e clínica de novos stents, porém esse método, à época da realização do presente estudo, não estava disponível para uso em experimentação animal em na instituição.

Conclusões

Neste estudo experimental, os stents farmacológicos recobertos com sirolimus e polímero bioabsorvível em artérias coronárias porcinas apresentaram menor hiperplasia neointimal quando comparados a stents não farmacológicos de controle. O stent recoberto com polímero bioabsorvível

e sirolimus liberado apenas da face abluminal (stent Inspiron®) apresentou mesma eficácia antiproliferativa neointimal que o stent com sirolimus liberado das faces luminal e abluminal.

Fontes de Financiamento do Estudo

Secretaria de Ciência e Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE)/Departamento de Ciência e Tecnologia (DECIT) do Ministério da Saúde (MS), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP) do Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp).

Contribuição dos autores

Concepção e desenho da pesquisa: Takimura CK, Campos CAH; Obtenção de dados: Takimura CK, Campos CAH, Campos JC, Gutierrez PS; Análise e interpretação dos dados: Takimura CK, Análise estatística: Takimura CK; Rascunho do manuscrito: Takimura CK, Craveiro PHM; Supervisão como investigador principal: Takimura CK; Revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo intelectual importante: Campos CAH, Craveiro PHM, Borges TFC, Curado L, Morato SP, Laurindo FRM, Lemos Neto PA.

Potencial Conflito de Interesses

Os autores Celso Kiyochi Takimura, Francisco Rafael Martins Laurindo e Pedro Alves Lemos Neto são consultores científicos da Scitech produtos médicos. Os autores Luciano Curado e Spero Penha Morato são empregados da Scitech produtos médicos.

Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado parcialmente por SCTIE/DECIT do Ministério da Saúde, CNPQ, FINEP, FAPESP.

Vinculação Acadêmica

Não há vinculação deste estudo com dissertações e teses de pós-graduação.

Referências

1. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med.* 2002;346(23):1773-80.
2. Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, et al. One-year clinical results with the slow-release, polymer-based, paclitaxel-eluting taxus stent: The TAXUS-IV trial. *Circulation.* 2004;109(16):1942-7.
3. Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Buser PT, Rickenbacher P, Hunziker P, Mueller C, et al. Late clinical events after clopidogrel discontinuation may limit the benefit of drug-eluting stents: an observational study of drug-eluting versus bare-metal stents. *J Am Coll Cardiol.* 2006;48(12):2584-91.
4. Stone GW, Moses JW, Ellis SG, Schofer J, Dawkins KD, Morice MC, et al. Safety and efficacy of sirolimus- and paclitaxel-eluting coronary stents. *N Engl J Med.* 2007;356(10):998-1008.
5. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzi E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA.* 2005;293(17):2126-30.
6. Lemos PA, Laurindo FR, Morato SP, Takimura C, Campos CA, Gutierrez OS, et al. Stent coronário de liga cobalto-cromo concebido no Brasil: Achados histológicos preliminares em modelo experimental porcino. *Rev Bras Cardiol Invas.* 2007;15(4):378-85.

7. Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31(1):224-30.
8. Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey LR, Llanos G, Wilensky R, et al. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. *Circulation*. 2001;104(10):1188-93.
9. Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, Chronos N, Rogers C, Robinson KA, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies recommended evaluation from a consensus group. *Circulation*. 2002;106(14):1867-73.
10. Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, Carter A, Granada JF, Kaluza GL, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: updated consensus recommendations for preclinical evaluation. *Circ Cardiovasc Intervent*. 2008;1(2):143-53.
11. Suzuki Y, Yeung AC, Ikeno F. The pre-clinical animal model in the translational research of interventional cardiology. *JACC Cardiovasc Interv*. 2009;2(5):373-83.
12. Camenzind E, Steg PG, Wijns W. Stent thrombosis late after implantation of first-generation drug-eluting stents: a cause for concern. *Circulation*. 2007;115(11):1440-55.
13. Nakazawa G, Finn AV, Vorpahl M, Ladich ER, Kolodgie FD, Virmani R. Coronary responses and differential mechanisms of late stent thrombosis attributed to first-generation sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(4):390-8.
14. Stefanini GG, Byrne RA, Serruys PW, de Waha A, Meier B, Massberg S, et al. Biodegradable polymer drug-eluting stents reduce the risk of stent thrombosis at 4 years in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a pooled analysis of individual patient data from the ISAR-test 3, ISAR-test 4, and LEADERS randomized trials. *Eur Heart J*. 2012;33(10):1214-22.
15. Pendyala LK, Matsumoto D, Shinke T, Iwasaki T, Sugimoto R, Hou D, et al. Nobori stent shows less vascular inflammation and early recovery of endothelial function compared with Cypher stent. *JACC Cardiovasc Interv*. 2012;5(4):436-44.
16. Sabate M, Cequier A, Iniguez A, Serra A, Hernandez-Antolin R, Mainar V, et al. Everolimus-eluting stent versus bare-metal stent in ST-segment elevation myocardial infarction (examination): 1 year results of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2012;380(9852):1482-90.
17. Palmerini T, Biondi-Zoccai G, Della Riva D, Stettler C, Sangiorgi D, D'Ascenzo F, et al. Stent thrombosis with drug-eluting and bare-metal stents: Evidence from a comprehensive network meta-analysis. *Lancet*. 2012;379(9824):1393-402.
18. Kolandaivelu K, Swaminathan R, Gibson WJ, Kolachalama VB, Nguyen-Ehrenreich KL, Giddings VL, et al. Stent thrombogenicity early in high-risk interventional settings is driven by stent design and deployment and protected by polymer-drug coatings clinical perspective. *Circulation*. 2011;123(13):1400-9.
19. Takimura CK, Galon MZ, Lopes Jr A, Carvalho J, Ferreira SK, Chaves MJ, et al. Avaliação pela tomografia de coerência óptica de stent nacional recoberto com polímero biodegradável eluidor de sirolimus vs. Stent eluidor de biolimus a9 em artérias coronárias porcinas. *Rev Bras Cardiol Invasiva*. 2011;19(2):138-44.
20. Takimura CK, Watanabe IS, Laurindo FR, Gutierrez PS, Aiello VD, Morato SP, et al. Assessment of stent strut endothelialization in iliac arteries of rabbits. *Arq Bras Cardiol*. 2012;99(6):1123-8.