

Estudo da Dose Excipiente:Fármaco com Avaliação da Hiperplasia Neointimal por Tomografia de Coerência Óptica e Histopatologia em Artérias Coronárias Porcinas após o Emprego do Balão Eluidor de Sirolimus

Celso Kiyochi Takimura¹, Micheli Zanotti Galon², Prakash Sojitra³, Manish Doshi⁴, Vera Aiello⁵, Paulo Sampaio Gutierrez⁶, Juliana Carvalho⁷, Suzane Kiss Ferreira⁸, Marcio Jose Figueira Chaves⁹, Francisco Rafael Martins Laurindo¹⁰, Pedro Alves Lemos¹¹

RESUMO

Introdução: Magic Touch™ é um balão recoberto com nanopartículas carreadoras de sirolimus. Objetivamos encontrar a dose excipiente:fármaco com a maior capacidade de inibição da proliferação neointimal 28 dias após o uso desse balão pós-implante de stent não-farmacológico em artérias coronárias porcinas. **Métodos:** Foram avaliados 14 porcos com implante coronário de stent não-farmacológico seguido por dilatação (60 segundos) com balões com relação excipiente:sirolimus 1:1, 0,5:1, 0,25:1 e 1:0 ou balão controle. Após 28 dias a hiperplasia neointimal foi estudada por tomografia de coerência óptica e histopatologia. **Resultados:** A hiperplasia neointimal porcentual (%) avaliada pela tomografia de coerência óptica e pela histomorfometria foi de 32,2 e 35,1, 28,1 e 33,4, 17,3 e 20,9, 28,6 e 30,2, e 37,9 e 42,3 nos grupos excipiente:sirolimus 1:1, 0,25:1, 0,5:1, 1:1, 1:0 e balão controle, respectivamente ($P = 0,03$ para excipiente:sirolimus 1:1 vs. balão controle). A espessura (mm) da neointima inter-hastes foi de 0,23, 0,30, 0,16, 0,24 e 0,30 nos grupos excipiente:sirolimus 0,25:1, 0,5:1, 1:1, 1:0 e balão controle, respectivamente ($P < 0,01$ para excipiente:sirolimus 1:1 vs. balão controle). Os escores de inflamação, injúria e deposição de fibrina foram baixos e sem diferenças significantes entre os grupos. **Conclusões:** Ocorreu gradual aumento da eficácia inibitória da proliferação neointimal à medida que a concentração do excipiente aumentou; a menor eficácia ocorreu com a formulação excipiente:sirolimus

ABSTRACT

Excipient:Drug Dose Finding with Neointimal Hyperplasia Assessed by Optical Coherence Tomography and Histopathology in Porcine Coronary Arteries after Sirolimus-Eluting Balloon Employment

Background: Magic Touch™ is a sirolimus based nano carrier balloon. We aimed at finding the excipient:drug ratio with the highest capacity to inhibit neointimal proliferation 28 days after the use of this balloon after bare metal stenting in porcine coronary arteries. **Methods:** Fourteen domestic pigs with coronary bare metal stenting followed by dilation (60 seconds) using balloons with an excipient:sirolimus ratio of 1:1, 0.5:1, 0.25:1, 1:0 or a control balloon were evaluated. After 28 days neointimal hyperplasia was assessed by optical coherence tomography and histopathology. **Results:** Percent neointimal hyperplasia (%) assessed by optical coherence tomography and histomorphometry was 32.2 and 35.1, 28.1 and 33.4, 17.3 and 20.9, 28.6 and 30.2, and 37.9 and 42.3 in the groups with 0.25:1, 0.5:1, 1:1, 1:0 excipient:sirolimus ratios and control balloon, respectively ($P = 0.03$ for excipient:sirolimus 1:1 versus control balloon). The neointimal interstrut thickness (mm) was 0.23, 0.30, 0.16, 0.24 and 0.30 in the groups with 0.25:1, 0.5:1, 1:1, 1:0 excipient:sirolimus ratios and control balloon, respectively ($P < 0.01$ for excipient:sirolimus 1:1 versus control balloon). The scores of inflammation, injury and fibrin

¹ Doutor em Ciências. Médico pesquisador do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

² Médica cardiologista do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

³ Engenheiro da Concept Medical Research Private Limited. Cleveland, Ohio, Estados Unidos.

⁴ Engenheiro da Concept Medical Research Private Limited. Cleveland, Ohio, Estados Unidos.

⁵ Livre-docente. Médica do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

⁶ Livre-docente. Médico do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

⁷ Biomédica do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

⁸ Biomédica do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

⁹ Biólogo do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

¹⁰ Livre-docente. Médico do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

¹¹ Livre-docente. Médico do Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. São Paulo, SP, Brasil.

Correspondência: Celso Kiyochi Takimura. Rua Botelho, 155/162 – Vila Guarani – São Paulo, SP, Brasil – CEP 04313-200
E-mail: celsotakimura@hotmail.com

Recebido em: 21/3/2012 • Aceito em: 30/5/2012

0,25:1 e a mais intensa inibição foi observada com a formulação excipiente:sirolimus 1:1, a qual reduziu significativamente a proliferação neointimal em comparação com o grupo controle, com baixos índices de inflamação e injúria.

DESCRITORES: Angioplastia coronária com balão. Reestenose coronária. Stents. Sirolimo. Experimentação animal.

Fármacos com propriedades antiproliferativas como o paclitaxel e fármacos da família "limus" (sirolimus, everolimus, zotarolimus, biolimus A9 e amfilimus) estão incorporados a stents metálicos¹⁻⁵, a stents bioabsorvíveis⁶ e também a balões farmacológicos.⁷

O fenômeno da reestenose pós-intervenção vascular persiste apesar dos enormes avanços obtidos com a introdução dos stents eluidores de fármacos. Por outro lado, possivelmente como efeito do retardo da endotelização dos stents e dos efeitos inflamatórios decorrentes da presença dos polímeros carreadores dessas drogas antiproliferativas, esses stents eluidores de fármacos trouxeram à luz entidades até então pouco conhecidas, como a trombose tardia de stents.⁸ Os stents metálicos, com ou sem liberação de fármacos, apresentam várias limitações, como seu uso em lesões em vasos de muito pequeno calibre, lesões longas ou em localizações muito distais, assim como em lesões com curvaturas proximais acentuadas. Para esses casos, alternativas são desejáveis.

Uma parte da solução pode estar nos stents bioabsorvíveis com liberação de fármacos, os quais proporcionam sustentação temporária da parede vascular, minimizando a retração elástica e reparando a dissecção que ocorre com a dilatação da lesão, resultando, com a incorporação de fármacos antiproliferativos, em redução significativa da proliferação neointimal.⁹

Uma possível alternativa ou terapia adjunta aos stents metálicos são os balões eluidores de fármacos. Vários balões já estão disponíveis comercialmente, todos eles liberando paclitaxel. Esses balões com liberação de paclitaxel mostraram-se seguros e eficazes em estudos pré-clínicos e clínicos e foram especialmente eficazes no tratamento da reestenose coronária intrastent.¹⁰ Estudos clínicos estão sendo realizados para avaliar sua eficácia no tratamento de outras lesões coronárias, como aquelas localizadas em vasos de fino calibre, em oclusões crônicas ou situações clínicas como o diabetes melito e o infarto agudo do miocárdio.

O sirolimus, tal qual o paclitaxel e o zotarolimus, é um fármaco com comportamento lipofílico e, portanto, ideal para ser incorporado à superfície desses

deposição were low and there was no significant difference among groups. **Conclusions:** There was a stepwise increase in inhibitory efficacy of neointimal proliferation as the excipient concentration increased; the lowest efficacy was observed with the 0.25:1 excipient:sirolimus formulation and the most intensive inhibition was observed with the 1:1 excipient:sirolimus formulation. The 1:1 excipient:sirolimus formulation significantly reduced neointimal proliferation when compared to the control group, with low inflammation and injury scores.

DESCRIPTORS: Angioplasty, balloon, coronary. Coronary restenosis. Stents. Sirolimus. Animal experimentation.

balões farmacológicos. Além disso, o sirolimus é fármaco bastante conhecido desde 1996, quando teve início sua utilização clínica como terapia adjuvante pós-transplante renal¹¹, foi utilizado no primeiro stent coronário farmacológico disponível comercialmente (Cypher®, Cordis Corp., Warren, Estados Unidos)¹² e é o fármaco que recobre o primeiro stent farmacológico produzido na América Latina (Inspiron®, Scitech Medical, Goiânia, GO).¹

O objetivo deste estudo foi encontrar a melhor relação excipiente:fármaco de um cateter-balão recoberto com nanopartículas carreadoras de sirolimus (Magic Touch™, Concept Medical, Inc., Cleveland, Estados Unidos), sem recobrimento de polímero, utilizado após o implante de stents não-farmacológicos em artérias coronárias porcinas.

MÉTODOS

Aspectos éticos

Em todos os procedimentos foram respeitadas as normas de proteção e cuidados para animais de experimentação estabelecidas nos Princípios Éticos na Experimentação Animal do Serviço de Apoio à Pesquisa e Experimentação Animal do Instituto do Coração da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo assim como do *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals* (Institute of Laboratory Animal Resources, Commission on Life Sciences and National Research Council. National Academy Press, Washington, D.C., 1996) e dos Princípios Éticos na Experimentação Animal do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA).¹³

Modelo animal

No total, 14 porcos domésticos juvenis, fêmeas, não-ateroscleróticos, provenientes de granja comercial, receberam medicação pré-anestésica (ketamina 3 mg/kg e midazolam 0,5 mg/kg) por via intramuscular seguida de infusão endovenosa de tiopental, entubação orotraqueal e ventilação mecânica com manutenção do nível anestésico com isoflurano. A saturação de oxigênio era monitorada pela cauda do animal e a frequência

e o ritmo cardíacos eram monitorados com monitor cardíaco.¹⁴

Informações técnicas dos balões recobertos com nanopartículas

Foram preparadas nanopartículas compostas por dupla camada fosfolipídica e com formulação variável excipiente:sirolimus: 0,25:1, 0,5:1, 1:1 e 1:0. Essas nanopartículas com diâmetro médio de 210 nanômetros foram aplicadas à superfície de balões de angioplastia coronária convencionais por meio da técnica de spray assistido por gás inerte. Testes *in vitro* evidenciaram aderência estável desse recobrimento aos balões, assim como superfície lisa, regular, uniforme, sem dobras ou fraturas.^{15,16}

Verificou-se que essas nanopartículas carreadoras aplicadas a balões de angioplastia coronária, após breve exposição de 60 segundos na parede arterial, são encontradas inicialmente na superfície endotelial, em seguida na camada média e, finalmente, em locais mais profundos da parede, como a adventícia.¹⁷

Técnica operatória

Após dissecação da artéria femoral comum era introduzido, sob visão direta, introdutor valvulado 6 F e eram administradas 10.000 UI de heparina não-fracionada. A seguir foi introduzido um cateter terapêutico Judkins Right 6 F (Philips, Eindhoven, Holanda) monitorado por fluoroscopia proporcionada pelo equipamento de angiografia digital Philips BV Pulsera (Philips, Eindhoven, Holanda). Cada artéria coronária era cateterizada seletivamente e eram administrados 200 µg de nitroglicerina intracoronária. A projeção angiográfica de eleição tanto para a artéria coronária esquerda como para a artéria coronária direita foi a oblíqua anterior esquerda 60 graus.

Após passagem intracoronária de um fio-guia 0,014 polegada foram implantados stents de cromo-cobalto não-farmacológico (Cronus™, Scitech, Goiânia, GO) com relação do diâmetro do balão expandido:artéria de 1,1:1. Os animais, obedecendo-se à randomização prévia, foram escolhidos para receber um stent por artéria e um balão farmacológico (4 formulações) ou balão convencional por stent. Assim, nos 14 animais, foram feitos 35 tratamentos (7 balões 0,25:1, 7 balões 0,5:1, 7 balões 1:1, 7 balões 1:0 e 7 balões convencionais). Cada stent foi dilatado por 60 segundos com o balão recoberto com nanopartículas ou com o mesmo balão de liberação do stent (grupo controle).

Os animais, após o procedimento, eram encaminhados para baias onde recebiam água *ad libitum*, ração comercial e antiagregantes plaquetários (ácido acetilsalicílico 100 mg e clopidogrel 75 mg) diariamente por 28 dias, quando retornavam ao laboratório para serem submetidos novamente a angiografia coronária, tomografia de coerência óptica e, posteriormente, eutanásia.

Angiografia coronária de controle

Após administração de medicamentos pré-anestésicos, entubação orotraqueal, anestesia inalatória e administração intracoronária de nitroglicerina eram realizadas angiografias coronárias de controle na mesma projeção angiográfica do procedimento índice.

Tomografia de coerência óptica

Imediatamente após angiografias coronárias de controle eram obtidas imagens de tomografia de coerência óptica utilizando-se o sistema M2 OCT (LightLab Imaging, Westford, Estados Unidos).

Inicialmente era passado um fio-guia 0,014 polegada na artéria coronária distalmente ao local tratado. A seguir um balão Helios® (LightLab Imaging) de alta complacência foi introduzido por sobre a guia e posicionado distalmente ao local tratado. A seguir era retirado o fio-guia 0,014 polegada e trocado por um cateter de imagem ImageWire® (LightLab Imaging). O balão Helios® era recuado proximalmente e insuflado com uma mistura equivolúmica de soro e contraste até a oclusão do fluxo sanguíneo. Nesse momento era infundido soro fisiológico para lavagem do sangue intravascular e obtenção de imagens de tomografia de coerência óptica, seguido de recuo automatizado do cateter de imagem de tomografia de coerência óptica a 1 mm/segundo. Essas imagens eram analisadas quanto a presença de trombo, malposição de hastes e cobertura tecidual das hastes, e eram realizadas medidas semiautomatizadas da área do lúmen, da área do stent e da espessura neointimal (distância das hastes de stent até o lúmen) e calculadas a área neointimal (área do stent menos a área do lúmen) e a área neointimal porcentual (área neointimal dividida pela área do stent e multiplicada por 100).

Após o término da obtenção de imagens de tomografia de coerência óptica foi administrada aos animais dose adicional de medicação anestésica seguida por dose letal de cloreto de potássio.

Após a eutanásia era realizada toracotomia paramediana esquerda e abertura do pericárdio e cuidadosamente eram pinçadas e seccionadas as veias cavas, o tronco pulmonar e a aorta e era removido o coração. A seguir o coração era lavado com água potável e era infundida uma solução de formol a 10% sob pressão de 100 mmHg na raiz da aorta para perfusão coronária por 30 minutos. Os segmentos arteriais contendo stent eram dissecados, removidos e colocados em solução de formol a 10% e encaminhados para processamento histológico, como descrito em trabalho anterior.¹⁸

Histopatologia

Foram realizados 3 cortes histológicos por terço de segmento de stent (proximal, médio e distal). Esses cortes foram corados com hematoxilina-eosina e pela coloração de Verhoeff para fibras elásticas e posterior-

mente analisados qualitativa e quantitativamente por patologistas e técnico especializado, sem o conhecimento do tratamento realizado em cada lâmina. Na análise quantitativa foram utilizados os escores de inflamação modificada de Kornovski¹⁹, o escore de fibrina²⁰ e os escores de injúria de Schwartz²¹ e Gunn.²²

A quantificação da área do lúmen, da área do stent, da área da lâmina elástica interna, da área da lâmina elástica externa e da espessura neointimal sobre as hastes e inter-hastes foi realizada por meio do *software* de mensuração Leica QWin (Leica Microsystems, Wetzlan, Alemanha).

Análise estatística

Os dados são apresentados como mediana (mínimo-máximo) ou porcentagens (%) (mínimo-máximo). Foi utilizada a análise de variância com um fator (One-Way ANOVA) para comparação entre os grupos e análise *post hoc* se o teste de razão das variâncias (teste F) fosse significativo. Utilizou-se o programa estatístico SPSS 13.0 para análise dos dados e considerou-se valor de $P \leq 0,05$ como significância estatística.

RESULTADOS

Os 14 animais sobreviveram ao procedimento índice e até o período de 28 dias pós-tratamento.

À angiografia de controle observamos que todas as artérias coronárias estavam patentes e sem imagens sugestivas de dissecação, trombo ou aneurisma.

Tomografia de coerência óptica

Todos os stents apresentavam-se com cobertura tecidual completa e não foi observado nenhum caso de malaposição de hastes de stents.

Os stents implantados que foram dilatados com balão eluidor de sirolimus com a formulação excipiente:sirolimus 1:1 apresentaram menor área neointimal (mm²), menor área neointimal porcentual (%) e menor espessura neointimal (mm) em relação ao grupo balão controle (1,46 mm² vs. 2,16 mm², 17,3% vs. 32,2% e 0,15 mm vs. 0,31 mm, respectivamente) ($P = 0,03$) (Tabela 1).

Histopatologia

Achados histomorfométricos

Nos stents que foram dilatados com balão excipiente:sirolimus 1:1 observou-se menor área neointimal, menor área neointimal porcentual, menor espessura neointimal sobre as hastes e menor espessura neointimal inter-hastes em relação ao grupo balão controle (Tabela 2).

Achados histomorfológicos

Baixos escores de inflamação e fibrina foram observados em todos os grupos, sem diferenças significantes entre esses grupos.

Os escores de injúria (Schwartz e Gunn) foram semelhantes em todos os grupos, sem diferenças significantes entre esses grupos (Tabela 3).

DISCUSSÃO

Em 2000, Herdeg et al.²³ demonstraram que, após angioplastia em artérias carótidas de coelhos, a administração local de paclitaxel acarretava redução da área de proliferação neointimal. Isso resultou no conceito e no desenvolvimento posterior de uma nova classe de dispositivo aplicado à terapia vascular percutânea: os balões eluidores de fármacos ou balões farmacológicos.

TABELA 1
Achados quantitativos da tomografia de coerência óptica

| | Excipiente:sirolimus 0,25:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 0,5:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:0 (n = 7) | Balão controle (n = 7) | P |
|-------------------------------------|---|--|--|--|------------------------------|-------|
| Stent, mm ² | 7,62 (6,53-8,69) | 9,36 (8,25-11,17) | 7,95 (7,23-11,26) | 8,15 (6,74-8,64) | 7,89 (7,33-9,47) | 0,4 |
| Lúmen, mm ² | 4,43 (3,65-5,83) | 6,61 (3,59-9,42) | 5,96 (5,89-9,71) | 6,02 (3,04-6,52) | 4,36 (3,12-6,22) | 0,5 |
| Área neointimal, mm ² | 2,16 (2,01-3,85) | 2,76 (1,57-4,49) | 1,46 (0,98-2,22) | 2,27 (1,81-3,62) | 2,44 (1,78-3,70) | 0,03* |
| Área neointimal porcentual, % | 32,2 (26,6-51,3) | 28,1 (14,1-66,2) | 17,3 (12,2-25,1) | 28,6 (21,7-52,7) | 37,9 (26,6-48,6) | 0,03* |
| Espessura neointimal, mm | 0,27 (0,24-0,49) | 0,24 (0,19-0,67) | 0,15 (0,12-0,21) | 0,27 (0,23-0,48) | 0,31 (0,25-0,53) | 0,03* |

* Comparação excipiente:sirolimus 1:1 vs. balão controle.

TABELA 2
Achados histomorfométricos

| | Excipiente:sirolimus 0,25:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 0,5:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:0 (n = 7) | Balão controle (n = 7) | P |
|---|---|--|--|--|------------------------------|-------|
| Área do lúmen, mm ² | 3,87 (2,10-4,30) | 3,78 (1,71-5,74) | 4,30 (3,19-6,25) | 3,16 (1,98-4,01) | 3,37 (2,32-4,45) | 0,7 |
| Lâmina elástica externa, mm ² | 6,57 (4,81-6,99) | 7,88 (6,47-9,27) | 6,97 (4,95-8,91) | 6,11 (4,99-6,79) | 6,94 (5,70-8,58) | 0,7 |
| Lâmina elástica interna, mm ² | 5,37 (3,99-5,86) | 6,23 (5,42-7,91) | 5,55 (4,01-7,69) | 5,01 (3,95-5,58) | 5,49 (4,62-6,46) | 0,5 |
| Área neointimal, mm ² | 1,44 (1,18-2,03) | 2,17 (0,94-4,14) | 1,22 (0,83-1,35) | 1,59 (1,12-2,14) | 1,98 (1,62-2,42) | 0,02* |
| Área neointimal porcentual, % | 35,1 (25,0-58,9) | 33,4 (27,5-78,6) | 20,9 (17,4-25,3) | 30,2 (24,7-54,2) | 42,3 (34,4-46,1) | 0,03* |
| Espessura neointimal sobre as hastes, mm | 0,21 (0,15-0,47) | 0,28 (0,12-0,75) | 0,15 (0,13-0,22) | 0,22 (0,18-0,24) | 0,28 (0,16-0,45) | 0,04* |
| Espessura neointimal inter-hastes, mm | 0,23 (0,18-0,46) | 0,30 (0,15-0,74) | 0,16 (0,14-0,21) | 0,24 (0,21-0,24) | 0,30 (0,29-0,47) | 0,01* |

* Comparação excipiente:sirolimus 1:1 vs. balão controle.

TABELA 3
Achados histomorfológicos

| | Excipiente:sirolimus 0,25:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 0,5:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:1 (n = 7) | Excipiente:sirolimus 1:0 (n = 7) | Balão controle (n = 7) | P |
|----------------------|---|--|--|--|------------------------------|-------|
| Inflamação | 1 (1-1) | 1 (1-1) | 1 (0-1) | 1 (1-1) | 1 (1-1) | > 0,9 |
| Fibrina | 1 (0-1) | 1 (0,5-1) | 1 (0-1) | 0 (0-0,5) | 0 (0-1) | 0,2 |
| Score de Schwartz | 1 (0,5-1) | 1 (1-2) | 1 (0,5-2) | 1 (1,5-2) | 1 (0,5-1) | 0,7 |
| Score de Gunn | 2 (2-2) | 2 (1,5-3) | 1,5 (1,5-2) | 2 (1-2,5) | 1,5 (1,5-2) | 0,3 |

Scheller et al.²⁴, em estudos pré-clínicos, avaliaram extensivamente balões recobertos com paclitaxel e observaram, em estudo clínico, redução da proliferação neointimal e eficácia no tratamento da reestenose intrastent.²⁵

Nos stents eluidores de fármacos apenas 15% da superfície do vaso fica em contato com as hastes

dos stents e os balões eluidores de fármacos têm a potencial vantagem de possibilitar entrega de fármaco antiproliferativo à parede de forma mais ampla e homogênea.²⁶ Outras vantagens em relação aos stents metálicos são a liberação imediata do medicamento sem o uso de polímero, a potencial redução no uso de antiplaquetários, o uso em lesões em que o implante

de stent não é desejável, como em lesões longas ou distais, segmentos proximais à lesão muito angulados, lesões em pequenos vasos, lesões em bifurcações, lesões em artérias periféricas (artérias femorais superficiais, artérias poplíteas e outras artérias infrapoplíteas) e em *shunts* de hemodiálise. Potencialmente esses balões farmacológicos podem ainda ser utilizados em lesões intravasculares em pacientes pediátricos. Em suma, a potencial aplicação humana dos balões farmacológicos encontra-se em todos os casos em que o uso de stent tem limitação ou quando este não seja fisicamente desejável.

A European Society of Cardiology (ESC) e a European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) recomendam o emprego de balões farmacológicos liberadores de paclitaxel para o tratamento da reestenose intrastent, classificando-os como classe de recomendação IIA e nível de evidência B.²⁷

A nanotecnologia aplicada à área médica está presente em nosso dia a dia em materiais, equipamentos e medicamentos. A encapsulação de fármacos por meio de nanopartículas possibilita a aplicação de diversos fármacos à superfície de balões e stents e, por meio destes, a entrega aos tecidos.²⁸

Demonstramos neste estudo experimental que esse balão recoberto com nanopartículas eluidoras de sirolimus utilizado após o implante de stents convencionais foi seguro, sem nenhuma evidência de reação tóxica ou trombótica local e a formulação 1:1 excipiente:fármaco inibiu significativamente a proliferação neointimal em artérias coronárias porcinas.

Estudos clínicos são necessários para avaliar a segurança e a eficácia em humanos e a precisa indicação desse balão eluidor de sirolimus nas intervenções vasculares coronárias e periféricas.

Este estudo experimental tem como limitação a utilização de animais sem lesões ateroscleróticas. Entretanto, para fins de desenvolvimento de produtos, esses animais com artérias normais são aceitos e recomendados por entidades como o Food and Drug Administration (FDA).²⁹

Recentemente foram publicados estudos pré-clínicos com balão liberador de zotarolimus^{30,31}, apontando que os fármacos da família "limus" são promissores como agentes antiproliferativos aplicados a dispositivos médicos.

CONCLUSÕES

Neste experimento pré-clínico com a utilização de balão liberador de sirolimus após implante de stent convencional em artérias coronárias porcinas, observamos aumento gradual da eficácia inibitória da proliferação neointimal à medida que utilizamos cateteres-balão com aumento da relação excipiente:sirolimus. A menor eficácia ocorreu com a formulação excipiente:sirolimus 0,25:1 e a maior ocorreu com a formulação excipiente:sirolimus

1:1, a qual reduziu significativamente a proliferação neointimal em comparação com o grupo controle, com baixos índices de inflamação e injúria.

CONFLITO DE INTERESSES

Prakash Sojitra e Manish Doshi são pesquisadores da Concept Medical Research Private Ltd. (Cleveland, Estados Unidos). Os demais autores declaram não haver conflito de interesses relacionado a este manuscrito.

REFERÊNCIAS

1. Ribeiro H, Campos C, Lopes A, Esper R, Abizaid A, Meireles G, et al. Randomized comparison of the efficacy and safety of a novel DES with biodegradable polymer and cobalt-chromium alloy – INSPIRON I trial. *EuroIntervention*. 2011;7 Suppl M:184.
2. Waksman R, Barbash IM, Dvir D, Torguson R, Ben-Dor I, Maluenda G, et al. Safety and efficacy of the Xience V everolimus-eluting stent compared to first-generation drug-eluting stents in contemporary clinical practice. *Am J Cardiol*. 2012;109(9):1288-94.
3. Leon MB, Mauri M, Popma JJ, Cutlip DE, Nikolsky E, O'Shaughnessy C, et al. A randomized comparison of the Endeavor zotarolimus-eluting stent versus the Taxus paclitaxel-eluting stent in de novo native coronary lesions. 12-month outcomes from the ENDEAVOR IV Trial. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55(6):543-54.
4. Stefanini GG, Kalesan B, Serruys PW, Heg D, Buszman P, Linke A, et al. Long-term clinical outcomes of biodegradable polymer biolimus-eluting stents versus durable polymer sirolimus-eluting stents in patients with coronary artery disease (LEADERS): 4 year follow-up of a randomized non-inferiority trial. *Lancet*. 2011;378(9807):1940-8.
5. Carrié D, Berland J, Verheye S, Hauptmann KE, Vrolix M, Violini R, et al. A multicenter randomized trial comparing amphillimus – with paclitaxel – eluting stents in the novo native coronary artery lesions. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(15):1371-6.
6. Serruys PW, Ormiston JA, Onuma Y, Regar E, Gonzalo N, Garcia-Garcia HM, et al. A bioabsorbable everolimus-eluting coronary stent system (ABSORB): 2-year outcomes and results from multiple imaging methods. *Lancet*. 2009;373(9667):897-910.
7. Gray WA, Granada JF. Drug-coated balloons for the prevention of vascular restenosis. *Circulation*. 2010;121(24):2672-80.
8. McFadden EP, Stabile E, Regar E, Cheneau E, Ong AT, Kinnaird T, et al. Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. *Lancet*. 2004;364(9444):1519-21.
9. Serruys PW, Onuma Y, Dudek D, Smits PC, Koolen J, Chevalier B, et al. Evaluation of the second generation of a bioresorbable everolimus-eluting vascular scaffold for the treatment of de novo coronary artery stenosis: 12-month clinical and imaging outcomes. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58(15):1578-88.
10. Habara S, Mitsudo K, Kadota K, Goto T, Fujii S, Yamamoto H, et al. Effectiveness of paclitaxel-eluting balloon catheter in patients with sirolimus-eluting stent restenosis. *JACC Cardiovasc Interv*. 2011;4(2):149-54.
11. Murgia MG, Jordan S, Kahan BD. The side effect profile of sirolimus: a phase I study in quiescent cyclosporine-prednisone-treated renal transplant patients. *Kidney Int*. 1996;49(1):209-16.
12. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2001;103(2):192-5.

13. Colégio Brasileiro de Experimentação Animal. Princípios éticos na experimentação animal. São Paulo: COBEA; 1991.
14. Takimura CK, Galon MZ, Lopes Junior ACA, Carvalho J, Ferreira SK, Chaves MJF, 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.
15. Doshi M, Sherdiwala D, Sojitra P, Vyas A, Gandhi P. Rejuvenating coronary artery by improving blood flow with the help of insertion of nano-balls (Encapsulated nanoparticles) containing therapeutic agents by non-implantable medical device for tissues and thereby providing in-tissue release to address the required cell cycle. US 20120065584 A1, Mar 15, 2012.
16. Doshi M, Sherdiwala D, Sojitra P, Vyas A, Gandhi P, Zagabathuni M. Reestablishment of blood flow in blocked human arteries by transferring nano-encapsulated drug through medical devices, designed for the same and releasing the nano-encapsulated drug in human arteries. US 20110264188 A1, Oct 27, 2011.
17. Yasdani S, Nakano M, Sherdiwala DP, Prakash S, Kolodgie FD, Virmani R. A temporal assessment of drug distribution following local balloon delivery of nanoparticle sirolimus. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58 Suppl:B6.
18. Lemos PA, Laurindo FRM, Morato SP, Takimura C, Campos CA, Gutierrez PS, et al. Stent coronário de liga cobalto-cromo concebido no Brasil: achados histológicos preliminares em modelo experimental porcino. *Rev Bras Cardiol Invasiva*. 2007;15(4):378-85.
19. 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.
20. 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.
21. 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.
22. Gunn J, Arnold N, Chan KH, Shepherd L, Cumberland DC, Crossman DC. Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima. *Heart*. 2002;88(4):401-5.
23. Herdeg C, Oberhoff M, Baumbach A, Blattner A, Axel DI, Schröder S, et al. Local paclitaxel delivery for the prevention of restenosis: biological effects and efficacy in vivo. *J Am Coll Cardiol*. 2000;35(7):1969-76.
24. Scheller B, Speck U, Abramjuk C, Bernhardt U, Böhm M, Nickening G. Paclitaxel balloon coating, a novel method for prevention and therapy of restenosis. *Circulation*. 2004;110(7):810-4.
25. Scheller B, Hehrlein C, Bocksch W, Rutsch W, Haghi D, Dietz U, et al. Treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter. *N Engl J Med*. 2006;355(20):2113-24.
26. Zimarino M, De Caterina R. Drug-eluting balloons for percutaneous coronary interventions. *Thromb Haemost*. 2009;101(1):9-11.
27. Wijns W, Kohh P, Danchin N, Di Mario C, Falk V, Folliguet T, et al. Guidelines on myocardial revascularization. Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS); European Association for Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J*. 2010;31(20):2501-55.
28. Nakano K, Egashira K, Masuda S, Funakoshi K, Zhao G, Kimura S, et al. Formulation of nanoparticle-eluting stents by a cationic electrodeposition coating technology. *J Am Coll Cardiol Interv*. 2009;2(4):277-83.
29. Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, Carter A, Granada J, Kaluza GL, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: updated consensus recommendations for preclinical evaluation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2008;1(2):143-53.
30. Granada JF, Milewski K, Zhao H, Stankus JJ, Tellez A, Abodi MS, et al. Vascular response to zotarolimus-coated balloons in injured superficial femoral arteries of the familial hypercholesterolemic swine. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4(5):447-55.
31. Cremers B, Toner JL, Schwartz LB, von Oepen R, Speck U, Kaufels N, et al. Inhibition of neointimal hyperplasia with a novel zotarolimus coated balloon catheter. *Clin Res Cardiol*. 2012;101(5):469-76.