

Protocolo experimental de indução de proliferação neointimal vascular em modelo de artérias coronárias suínas

JULIANA G. FERST¹
DIOVANA DALLAROSA¹
THEMIS THEISEN²
FERNANDA BAKKAR²
JOSÉ L. GUIMARÃES²
CRISTINA DREYER³
ALEXANDRE C. ZAGO⁴
ALCIDES J. ZAGO⁴
PAULO R. CENTENO RODRIGUES⁵
BEATRIZ G. KOSACHENCO⁵
JOSÉ CASCO RAUDALES^{4,6}

RESUMO

O objetivo foi desenvolver e implementar modelo experimental de indução de hiperproliferação neointimal em suínos (lesões vasculares simuladoras de reestenose). De Ago/2006 a Set/2008, 55 suínos da raça Large White foram submetidos a cateterismo cardíaco seguido de lesão vascular e, observados durante 28, 56 ou 84 dias. Após estes períodos, foram realizados cateterismo cardíaco e IVUS e ACTP com droga experimental ou IVUS e

¹ Acadêmico do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA - Bolsista PROICT/ULBRA

² Acadêmico do Curso de Medicina/ULBRA - Bolsista PROICT/ULBRA

³ Residente do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA, médico veterinário

⁴ Professor do Curso de Medicina/ULBRA

⁵ Professor do Curso de Medicina Veterinária/ULBRA

⁶ Professor -Orientador e coordenador do Centro de Pesquisa Cardiovascular (CPC) da ULBRA (jose.raudales@ulbra.br)

análise histológica da artéria coronária. Foram realizados 86 implantes de stents, 82 IVUS, 51 ACTP e 43 testes de drogas, totalizando 262 procedimentos (média de 4,8 procedimentos/animal). A taxa de reestenose binária foi de 89,0% (65/73 implantes), o que significa que o modelo foi implantado de forma satisfatória.

Palavras-chaves: Angioplastia coronária, modelo experimental suíno, neointima, reestenose, stent.

ABSTRACT

The study aim was to develop and apply an experimental protocol of vascular neointimal proliferation induction in swine (vascular injury producing restenosis-like lesions). From Aug/06 to Sept/08, 55 Large White swine were used; after completed both cardiac catheterization and vascular injury protocol, animals received postoperative care for 28, 56, and 84-day periods. After that, new catheterization and IVUS evaluation were done; the swine underwent PTCA and experimental drugs or IVUS evaluation followed by histological assessment of the coronary artery. PCI's procedures included 86 stent deployment, 82 IVUS evaluation, 51 PTCA and 43 drug tests performed, totalizing 262 procedures (average 4.8 per animal). The binary restenosis index achieved was 89.0% which means that swine model was successfully applied.

Key words: Coronary angioplasty, swine bio-experimental model, neointima, restenosis, stent

INTRODUÇÃO

Dos múltiplos modelos experimentais em animais, canino, murino, ovino, leporino e suíno, o modelo suíno apresenta características anátomo-morfo-funcionais mais correlatas com as características humanas. Assim, inúmeros estudos bioexperimentais têm demonstrado que a resposta hiperproliferativa caracterizada pela formação de neointima decorrente de lesão do endotélio vascular em suínos é histologicamente similar àquela observada na reestenose intravascular humana (SCHWARTZ et al., 1990; BONAN, PAIEMENT e LEUNG, 1996; GALLO et al., 1998; BIENVENU et al., 2001; SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001; LOWE et al., 2003).

O modelo suíno foi descrito originalmente por Schwartz et al. (1990) utilizando balões de angioplastia para produzir lesão na íntima vascular nas artérias

coronárias sadias de porcos jovens; posteriormente foram utilizados stents metálicos sobre-dimensionados com o mesmo objetivo (SCHWARTZ et al., 1992; ECKHARD et al., 2000; SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001). Do ponto de vista anatômico, as artérias coronárias suínas são bastantes semelhantes às coronárias humanas, no entanto apresentam menos circulação colateral (LOWE et al., 2003). O tronco da coronária esquerda bifurca, originando as artérias descendente anterior esquerda e circunflexa, esses vasos têm diâmetro similar às coronárias humanas (2 – 4 mm). A artéria circunflexa dá origem a até 3 ramos marginais enquanto que a descendente anterior irriga o septo através de 4 a 6 ramos septais. A artéria coronária direita é tão calibrosa quanto a humana, porém menos dominante (LOWE et al., 2003).

A justificativa deste modelo está baseada no fato que os testes de novos dispositivos cardiovasculares

intervencionistas, tais como os stents, precisam de um modelo animal adequado para avaliar a segurança, em termos de biocompatibilidade assim como as incidências de insucesso do procedimento e de eventos cardíacos adversos, e a eficácia quanto à incidência de reestenose binária angiográfica a curto prazo dos protótipos. De fato, a Food and Drug Administration (FDA) nos Estados Unidos tem proposto diretrizes que exigem a avaliação dos dispositivos de angioplastia coronária em modelo animal prévio à aprovação para pesquisa clínica (USA FDA, 1994).

O objetivo principal do trabalho foi desenvolver e implementar protocolo de modelo experimental de indução de hiperproliferação neointimal em suínos visando a criação de técnicas de lesão vascular simuladores de reestenose. Os objetivos secundários foram 1) Desenvolver métodos e/ou técnicas para tratar, prevenir ou até mesmo impedir essa complicação; 2) Avaliar o impacto das endopróteses intra-coronárias na interfase endotélio/superfície biocompatível, e 3) Avaliar o efeito de novas drogas inibidoras da reestenose ou então daquelas de uso comum, porém aplicadas com diferente metodologia.

MATERIAL E MÉTODOS

Amostra: Foram utilizados suínos jovens da raça Large White, com peso inicial aproximado de 45 a 50 kg. Após aplicar o protocolo de lesão vascular, os animais foram observados durante 04 semanas (28 dias), tempo suficiente para o desenvolvimento da neointima no local da injúria vascular. No período de recuperação, os animais foram mantidos em local apropriado e alimentados normalmente. Diariamente foram revisados os locais de acesso seguida da aplicação profilática de

antibióticos. Devido ao fato de implantar próteses dentro do leito vascular, se faz necessário o uso de drogas antiplaquetárias e antitrombóticas: ácido acetilsalicílico (AAS, 100 mg/dia indefinidamente) e clopidogrel na dosagem inicial de 37,5 mg/dia (LOWE et al., 2003), o qual foi aumentado para 75 mg/dia conforme o ganho ponderal aproximava-se dos 70 kg, e mantido durante pelo menos 3 meses). Em todos os procedimentos foram respeitadas as normas gerais de assepsia e anti-sepsia e guiados pelos protocolos de pesquisa animal conforme estabelecido pela Comissão de Ensino do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, s/d) e pelo Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2002). O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Humana e Animal da instituição.

Local: O projeto foi realizado no Laboratório de Hemodinâmica Experimental, localizado dentro do bloco cirúrgico do Hospital Veterinário da ULBRA e conta com a mesma estrutura de uma unidade similar para uso humano. A equipe de pesquisa é multidisciplinar contando com a participação de médicos, veterinários, enfermeiras, farmacêuticos, engenheiros, alunos do programa de iniciação científica e técnicos de várias áreas.

Anestesia: A medicação pré-anestésica foi realizada com atropina 0,044 mg/kg IM, acepromazina 0,1 mg/kg IM, midazolam 0,5 mg/kg IM e azaperone 2 mg/kg IM. Em estado semi-inconsciente o suíno era completamente higienizado com água morna e sabonete líquido. Na sala de pré-anestesia foi realizada venóclise na veia marginal da orelha e instituída fluidoterapia com solução de Ringer com lactato de sódio na dosagem de 5 a 10 ml/kg/hora. A indução anestésica foi realizada com uma associação comercial de tiletamina + zolazepam 4 mg/kg IV, seguida de intubação endotraqueal e ventilação espontânea

com O₂ a 100% na dose de 20 ml/kg/minuto. A manutenção da anestesia foi realizada com isoflurano ao efeito, utilizando um vaporizador universal. A partir deste momento, o paciente foi monitorado através da contagem da frequência cardíaca e respiratória, ECG de superfície, oximetria de pulso e controle de temperatura corporal. Após o posicionamento definitivo do paciente na mesa cirúrgica, era administrado tetraciclina 5 mg/kg IM como profilaxia antibiótica. No pós-operatório imediato foi utilizado cetoprofeno 3 mg/kg IV, tilosina 10 mg/kg IM e oxitetraciclina em veículo longa ação 20 mg/kg IM.

Abordagem vascular e trans-operatório: A abordagem vascular foi realizada através incisão cirúrgica por planos na região inguinal (eventualmente na região cervical ventral), seguida de dissecação vascular das artérias femorais (entre as duas porções do músculo sartório) ou carótidas externas, direita ou esquerda. Uma vez exposta a artéria, após adaptação de dois reparos com fita cardíaca, esta foi puncionada pela técnica de Seldinger modificada, seguida da colocação de uma bainha arterial 7F (Figura 1). Conseguído o acesso vascular, procedeu-se à administração sistêmica de heparina, na dosagem de 100 UI/kg IV (GALLO et al., 1999), com doses de reforço a cada 30 minutos se necessário (dependendo da duração da ICP). Foi adotado o uso profilático do antiarrítmico amiodarona 3 - 6 mg/kg IV ou 150 mg IV em dose única, e do vasodilatador coronário mononitrato de isossorbida 10 mg intracoronário. Terminado o procedimento, a artéria foi suturada em padrão contínuo simples com fio de polipropileno 6-0; os planos anatômicos foram fechados com fio de poliglactina 2-0 e a dermorrafia foi realizada com sutura intra-dérmica. A medicação utilizada no pós-operatório foi cetoprofeno 3 mg/kg VO Sid por 3 dias, oxitetraciclina 25 mg/kg VO Sid por 8 dias e tiamulin 8,8 mg/kg VO Sid por 8 dias; isto porque as baías dos suínos, apesar dos esforços

de higienização freqüente, são consideradas contaminadas e potencialmente infectantes.



Figura 1 - Laboratório de Hemodinâmica Experimental localizado dentro do bloco cirúrgico do Hospital Veterinário da ULBRA. Observa-se o momento em que um stent metálico está sendo preparado para ser implantado dentro da artéria coronária suína.

Em geral, quando a abordagem planejada foi pela artéria femoral, foram utilizados cateteres com curvas especiais como AR1, HS, MP e SR, sendo este último o cateter de escolha na maioria dos procedimentos, em função das características anatômicas particulares do arco aórtico dos suínos (GHOSHAL, 1986). Para realizar as angiografias coronárias, os implantes de stents e as angioplastias, bem como a colocação dos cateteres de ultra-som, foi utilizado um aparelho de cineangiografia modelo Angio Diagnost 5 (Figura 2) e, as imagens foram digitalizadas utilizando o sistema Digital Cardiac Imaging (DCI) sendo posteriormente gravadas e armazenadas em discos compactos (CDM 3300 recorder; todos os aparelhos da marca Philips). Os procedimentos diagnósticos e intervencionistas (angiografias coronárias, ACTP, implante de stents, IVUS, testes de drogas, etc.) foram realizados utili-

zando as mesmas técnicas de cardiologia intervencionista em seres humanos (ROUBIN et al., 1994; RAUDALES e ZAGO, 2000).

No cateterismo de controle, os suínos foram estudados por IVUS 28 dias após do implante da prótese intra-coronária, utilizando para tais fins o aparelho Oracle In-Vision Imaging System V 3.3.1 (EndoSonics Co., USA) (Figura 2) e os cateteres Avamar® F/X (Volcano Therapeutics Inc., USA). Nesta nova intervenção também foi realizada angioplastia convencional (para tratamento da reestenose) e aplicada droga experimental. Após outros 28 dias foi realizado novo cateterismo seguido de IVUS e análise histológica da artéria coronária em estudo.

Protocolo de lesão vascular: Para induzir a hiperproliferação neointimal foi utilizada a técnica de implante de um stent com dimensão superestimada (superdimensionado) para lesar a parede arterial (SCHWARTZ et al., 1990; BONAN, PAIEMENT e LEUNG, 1996; ECKHARD et al., 2000; SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001), ou seja, foi implantado um stent com diâmetro final 1,4 ou 1,5 maior (SCHWARTZ et al, 2001; HUCKLE et al., 2001) em relação ao diâmetro de referência do vaso e com comprimento total de 16 a 18 mm. Foram realizadas duas insuflações de 35 segundos de duração cada uma, a uma pressão de 16 até 25 atm com intervalos de 30 segundos entre as insuflações.

Eutanásia, microscopia eletrônica e histopatologia: Caso a eutanásia fosse indicada ou necessária para os fins da bioexperimentação, esta foi realizada com o suíno ainda sob os efeitos da anestesia geral, através da colocação do cateter guia dentro do ventrículo esquerdo, seguida da injeção intracavitária de 03 ampolas de cloreto de potássio (KCl) 10% ocasionando fibrilação ventricular seguida de parada

cardiorrespiratória (Resolução Nº 714 do CFMV, 2002). Uma vez completados os tempos e prazos do protocolo, alguns dos animais foram sacrificados e realizados estudos de microscopia eletrônica e histopatologia; aqui foram analisados os efeitos das próteses sobre o endotélio e tecidos subjacentes, a fim de determinar o grau de biocompatibilidade dos dispositivos (avaliado indiretamente pelo grau de hiperplasia neointimal desencadeado pelo stent). Foram realizadas algumas avaliações *In vitro* dos stents, por microscopia eletrônica de varredura, para o cálculo de suas dimensões e para análise da sua superfície.



Figura 2 - Console e monitor do aparelho de ultrassom intravascular (IVUS); mesa, tubo e intensificador de imagem do aparelho de hemodinâmica.

RESULTADOS

Desde a implementação do Laboratório de Hemodinâmica Experimental em Agosto de 2006 até Setembro de 2008, 55 suínos foram submetidos a ICP's nos quais foram implantados 86 stents (sobre-

dimensionados e protótipos), realizados 82 ultra-sons intra-coronários (IVUS), 51 angioplastias (ACTP s/stents) e 43 testes de drogas totalizando 262 procedimentos (média de 4,8 procedimentos por animal, Tabela 1). A taxa de sucesso dos implantes foi de 97,7%, havendo dois casos de migração proximal do stent. Das endopróteses implantadas, 73 eram stents sobre-dimensionados cuja finalidade era causar lesão vascular e gerar uma resposta hiperproliferativa significativa (objetivo da pesquisa). No entanto, no decorrer do projeto, alguns protótipos de stents ou de novas ligas metálicas (13 unidades, 15,1%) foram implantados para avaliar a sua segurança em termos de biocompatibilidade (outro objetivo da pesquisa). Como esses stents foram implantados mantendo uma relação 1:1 entre os diâmetros do vaso e da prótese, eles foram utilizados como grupo controle.

Tabela 1 - Resultados do modelo com implante de stent sobre-dimensionado.

Evento	Nº	Observações
Suínos Large White	55	Peso médio 45 – 50 kg (na 1ª. intervenção)
Anestesia geral	108	
PROCEDIMENTOS (ICP)		
STENTS IMPLANTADOS:	86	Total de stents implantados
- SOBRE-DIMENSIONADOS	73	Para induzir reestenose
- PROTÓTIPOS	13	Testes de biocompatibilidade
- SUCESSO	97,7%	02 casos de migração do stent
IVUS* REALIZADOS	82	Sucesso 100%
ACTP** s/STENT	51	Sucesso 100%
TESTE DE DROGAS	43	Sucesso 79,1%
TOTAL DE PROCEDIMENTOS	262	
MÉDIA DE PROCEDIMENTOS	4,8	
REESTENOSE BINÁRIA (↓ DL > 50%) [†]	89,0%	65 em 73 stents, calculada pelo QCA* e pelo IVUS*

*QCA e IVUS denotam angiografia coronária quantitativa e ultra-som intra-vascular respectivamente

**ACTP denota angioplastia coronária transluminal percutânea

[†]DL denota diâmetro luminal no local do implante

A mortalidade dos animais foi dividida em dois tipos: inicial e tardia. A incidência de mortalidade inicial (24–72 h) foi de 17,6% (seis animais), a qual aconteceu no começo do projeto. As principais causas de óbito

foram: quatro casos de septicemia, 01 caso de parada cardiorrespiratória e um caso de hipertermia maligna (Tabela 2). As mortes por septicemia aconteceram no pós-operatório imediato e os casos de parada cardíaca e hipertermia ocorreram uma no trans-operatório e outra na indução da anestesia. A incidência de mortalidade tardia (28 a 56 dias após 1ª intervenção) foi de 5,9% (dois casos), os óbitos aconteceram durante os testes farmacológicos e foram associados à oclusão aguda da coronária estudada seguida de fibrilação ventricular e parada cardíaca sem resposta às manobras usuais de ressuscitação cardiopulmonar.

Tabela 2 - Mortalidade e suas causas.

Evento	Nº (%)	Observações
Suínos Large White	55 (100%)	Peso médio 45 – 50 kg (na 1ª. intervenção)
MORTALIDADE INICIAL (CAUSA)		
- SEPTICEMIA	4 (7,3%)	Animais previamente doentes
- PARADA CARDIORRESPIRATÓRIA	1 (1,8%)	Durante a indução anestésica
- HIPERTERMIA MALIGNA	1 (1,8%)	Durante a indução anestésica
MORTALIDADE TARDIA (CAUSA)		
- PARADA CARDÍACA	2 (3,6%)	Dissecção e oclusão da coronária seguida de fibrilação ventricular
- INFECÇÃO NO LOCAL	1 (1,8%)	CELULITE NA FERIDA OPERATÓRIA
- POLITRAUMATISMO	1 (1,8%)	BRIGA NO CURRAL

A reestenose, isto é, a obstrução significativa > 50% do diâmetro luminal no local previamente tratado com implante de stent (e calculada tanto pelo QCA quanto pelo IVUS), foi observada em 65 dos 73 implantes de stent sobre-dimensionados, por tanto a incidência de reestenose binária foi de 89,0% (Tabela 3). Os stents utilizados como grupo controle, apresentaram reestenose binária de apenas 23,1% (P < 0,0001) (Tabela 3). Os resultados das ACTP e dos testes com as drogas antiproliferativas utilizadas para o tratamento da reestenose observada ainda estão na fase de análises (microscopia eletrônica e histologia) e serão motivo de outras publicações.

Tabela 3 - Taxa de reestenose binária (\downarrow DL > 50%)^f.

Stent	Nº absoluto	%	P
Dimensão superestimada	65/73	89,0	< 0,0001
DIMENSÃO 1:1 (CONTROLE)	3/13	23,1	

Dados calculados pelo QCA e USIC

^fDL significa diâmetro luminal no local do implante

DISCUSSÃO

Para gerar quantidades significativas de placa (hiperplasia neointimal) nos tecidos suínos saudáveis, se faz necessária a sobre-distensão vascular em torno de 30% a 50% (ECKHARD et al., 2000). Por esse motivo, o protocolo de lesão vascular exigiu o uso de um stent maior que o diâmetro de referência do vaso, isto significa uma relação 1,4:1 ou 1,5:1 entre o dispositivo e o vaso.

Em termos gerais, a resposta celular à lesão vascular não-aterosclerótica iatrogênica (balão ou stent) é caracterizada por ser tempo-dependente, ocorrendo:

1) Retração elástica e remodelamento geométrico vascular negativo do vaso, fenômenos comumente observados com o uso de balão de angioplastia de forma isolada (vide abaixo), porém inexistentes com o implante de stents; 2) Trombose mural focal induzida pelo stent, já evidente nas primeiras 24 h; 3) Presença de um infiltrado celular inflamatório (com pico aos 7 dias, mas ainda evidente aos 28 dias): liberação de endotelinas pelas células endoteliais; geração de trombina; ativação e migração de plaquetas, que além de produzir vasoconstrição também são responsáveis pela formação do trombo organizado de fibrina e da liberação de fatores de crescimento (growth factors), que por sua vez favorecem a migração e proliferação de células musculares lisas (SMC's), neutrófilos e macrófagos, e a produção de matriz extracelular, contribuindo para a formação de neointima que já é evidente nesta fase (GALLO et al., 1998; GERTZ et al., 1998; MCKENNA et al.,

1998; RAUDALES e ZAGO, 2000; BIENVENU et al., 2001). A fase proliferativa, é formada basicamente por SMC's, monócitos e macrófagos e, 4) Redução do diâmetro luminal intra-stent (focal ou difusa) quando comparado com o diâmetro de referência do vaso (Figura 3A).

Quando a redução no diâmetro luminal (no local previamente tratado com ACTP ou implante de stent) é superior a 50%, quando comparado com o diâmetro de referência do vaso (usualmente o segmento proximal da artéria), temos o fenômeno chamado de reestenose (ROUBIN et al., 1994; RAUDALES e ZAGO, 2000). A reestenose na sua forma mais simples não é mais que a resposta à cicatrização que se segue após a injúria vascular ocasionada pela ICP (SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001), e suas características histológicas principais são a retração elástica, o remodelamento geométrico negativo e a formação de neointima (ou hiperproliferação neointimal) (RAUDALES e ZAGO, 2000); no caso dos stents, os dois primeiros eventos não existem em função do suporte luminal gerado pela grande força radial que o stent exerce sobre a parede vascular, havendo fundamentalmente hiperplasia neointimal como mecanismo principal de reestenose (FRIMERMAN et al., 1999; RAUDALES e ZAGO, 2000; SUZUKI et al., 2001) (Figura 3B). A severidade e extensão da reestenose neste trabalho foram avaliadas tanto pelo QCA quanto pelo IVUS, como na maioria dos casos em seres humanos e classificadas de acordo ao padrão angiográfico observado (focal ou difusa) conforme descrito por Mehran et al. (1999). Esta classificação fornece importantes informações tanto de prognóstico quanto de orientação terapêutica.

Do ponto de vista histopatológico, as lesões obstrutivas de origem aterosclerótica (ou ateromas) da DAC são bastante diferentes das lesões obstrutivas decorrentes da reestenose. Os ateromas são espessamentos assimétricos focais da camada

mais interna do vaso, a íntima; estas placas estão constituídas por células sanguíneas, por elementos do tecido conjuntivo, acúmulo de LDL-C oxidado, detritos, endotélio e por células musculares lisas (RAUDALES et al., 2006). No centro do ateroma, células espumosas e gotículas de lipídios extracelulares formam a região central, a qual é circunscrita por uma capa de células musculares lisas e uma matriz rica em colágeno. Linfócitos T, macrófagos e mastócitos infiltram a lesão e são particularmente abundantes nas bordas do ateroma. A estabilidade das placas ateroscleróticas é proporcionada por uma matriz extracelular e por uma capa fibrosa espessa composta predominantemente de colágeno (tipos I e III) e elastina (RAUDALES et al., 2006).

As lesões reestenóticas, por outro lado, são constituídas fundamentalmente de uma matriz originada a partir de SMC's com apenas 11% de elementos celulares (Fig. 3B). Outra característica distintiva entre ambas formas de obstrução é que a reestenótica acontece em períodos consideravelmente mais curtos do que a aterosclerótica (seis meses versus 40 anos em média, respectivamente).

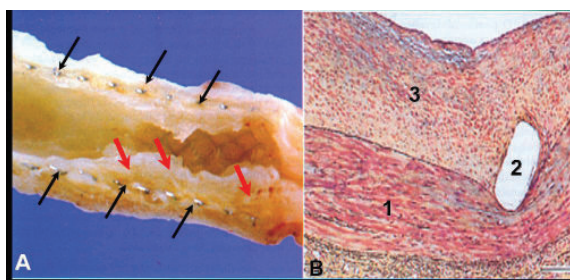


Figura 3. A. Segmento isolado de artéria coronária mostrando as hastes metálicas do stent (setas pretas) e a importante proliferação neointimal invadindo a luz do vaso ocasionando obstrução significativa. B. Microfotografia mostrando: 1. As camadas íntima e muscular da artéria; 2. Haste do stent, e 3. Proliferação neointimal significativa ocasionando obstrução luminal.

Como estabelecido inicialmente, um dos objetivos deste trabalho foi desenvolver e implementar protocolo de modelo experimental de indução de hiperproliferação neointimal em suínos. Assim, após aplicado o protocolo, obstrução significativa (> 50%) foi observada em 65 casos, por tanto a incidência de reestenose binária foi de 89,0% calculada em base às 73 endopróteses implantadas Tabela 1. No modelo clássico de reestenose de Schwartz et al. (1990) obtida através de ACTP com balão modificado e sobredimensionado, a incidência de reestenose binária foi de 90,9% (10/11 coronárias). Modelos posteriores de reestenose utilizando stents sobredimensionados mostraram resultados semelhantes (SCHWARTZ et al., 2001; MCKENNA et al., 1998; CHRISTEN et al., 2001).

Evidências a partir de estudos em artérias femorais de coelhos mostram que os stents sobredimensionados constituem um poderoso e prolongado estímulo que favorece os processos de mitose na íntima vascular. É evidente também, que o stent metálico não produz uma reação de corpo estranho, já que muitos trabalhos tem demonstrado a ausência ou apenas uma mínima resposta celular inflamatória crônica (i.e. ausência de células gigantes) no local da injúria (SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001).

Uma causa para essa grande hiperproliferação neointimal produzida pelo stent sobre-dimensionado é que cinco ou mais locais de injúria resultam numa região localizada ao redor da circunferência do vaso, cada um com a capacidade de gerar neointima. Este tipo de padrão de injúria é bastante diferente daquele observado com o uso do modelo de balão sobre-dimensionado, aonde apenas um único ponto de dissecação é a resposta típica (SCHWARTZ, KANTOR e HOLMES, 2001). Dois pontos que favorecem a utilização do stent

sobre-dimensionado como modelo para a criação de lesão vascular são: 1) o dano vascular pode ser classificado de acordo a um escore (SCHWARTZ et al., 1992) e, 2) tanto o tamanho quanto a extensão exata da injúria podem ser mensurados e comparados diretamente com a resposta hiperproliferativa, utilizando métodos de regressão como sugerido por Bonan et al. (1996).

Os suínos utilizados em nosso modelo experimental não receberam nenhum tipo de dieta rica em gorduras (aterogênica). A produção de achados histológicos parecidos com os da morfologia reestenótica proliferativa, na ausência de hiperlipemia concomitante, apóiam o conceito que a reestenose é um processo independente da aterosclerose (SCHWARTZ et al., 1990). De fato, talvez uma dieta aterogênica, com 20% de gordura e 2 – 4% de colesterol como a sugerida por Carter (2001), poderia intensificar a resposta hiperproliferativa; uma possibilidade que será estudada futuramente para avaliar os efeitos dos stents eluidores de drogas (ou DES) (LOWE et al., 2003) ou para testar os efeitos biológicos das novas drogas com propriedades antiproliferativas (GALLO et al., 1999; LOWE et al., 2003).

CONCLUSÕES

Tanto o laboratório de hemodinâmica como o modelo experimental de indução de proliferação neointimal vascular em suínos foram implantados de forma satisfatória, adequando-os aos objetivos almejados. Este modelo é de vital importância para avaliar não só a segurança e eficácia dos novos dispositivos, senão que também permite testar a infusão local de novos fármacos com propriedades antiproliferativas e avaliar a biocompatibilidade na interfase endotélio-superfície dos stents metálicos e os stents eluidores de drogas. O modelo é útil

para elucidar e entender melhor os mecanismos da reestenose, principalmente a reestenose intrastent. Futuramente, o modelo poderia ser utilizado também para o treinamento das novas gerações de intervencionistas e para realizar testes com terapias genéticas ou com células-tronco.

REFERÊNCIAS

BIENVENU, J.G. et al. Recombinant soluble P-selection glycoprotein ligand-1-Ig reduces restenosis through inhibition of platelet-neutrophil adhesion after double angioplasty in swine. **Circulation**, v.103, p.1128-1134, 2001.

BONAN. R.; PAIEMENT, P.; LEUNG. K. Swine model of coronary restenosis: effect of a second injury. **Catheterization and Cardiovascular Diagnosis**, v.38, p.44-49, 1996.

CARTER, A.J. Atherosclerotic porcine coronary stent model. Technical methods for preclinical studies. In: SIMON, D.I.; ROGERS, C. (Eds.). **Vascular disease and injury**. Preclinical research. New Jersey: Humana Press, 2001.

CHRISTEN, T. et al. Mechanisms of neointimal formation and remodeling in the porcine coronary artery. **Circulation**, v.103, p.882-888, 2001.

COBEA. **Princípios éticos na experimentação animal**. {s.l.: s.d.}.

CONSELHO FEDERAL DE MEDICINA VETERINÁRIA. Resolução Nº 714 de 20 de junho de 2002.

ECKHARD, A. et al. Inhibition of neointimal formation after experimental coronary artery stenting. **Circulation**, v.101, p.1453-1458, 2000.

FRIMERMAN, A. et al. Chimeric DNA-RNA hammerhead ribozyme to proliferating cell nuclear antigen reduces stent-induced stenosis in a porcine coronary model. **Circulation**, v.99, p.697-703, 1999.

GALLO, R. et al. Inhibition of intimal thickening after balloon angioplasty in porcine coronary arteries by targeting regulators of the cell cycle. **Circulation**, v.99, p.2164-2170, 1999.

GALLO, R. et al. Prolonged thrombin inhibition reduces restenosis after balloon angioplasty in porcine coronary arteries. **Circulation**, v.97, p.581-588, 1998.

GERTZ, S.D. et al. Hirudin reduces tissue factor expression in neointima after balloon injury in rabbit femoral and porcine coronary arteries. **Circulation**, v.98, p.580-587, 1998 .

GHOSHAL, N.G. Coração e artérias do suíno. In: SISSON/GROSSMAN, Eds. **Anatomia dos animais domésticos**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan S. A., 1986.

HUCKLE, R.W. et al. Effects of L-749,329, an ET_A/ET_B endothelin receptor antagonist in a porcine coronary artery injury model de vascular restenosis. **Circulation**, v.103, p.1899-1905, 2001.

LOWE, H.C. et al. The porcine coronary model of in-stent restenosis: current status in the era of drug-eluting stents. **Catheterization and Cardiovascular Interventions**, v.60, p.515-523, 2003.

MCKENNA, C.J. et al. Selective ET_A receptor antagonism reduces neointimal hyperplasia in a porcine coronary artery stent model. **Circulation**, v.97, p.2551-2556, 1998.

MEHRAN, R. et al. Angiographic patterns on in-stent restenosis. Classification and implications for long-term outcome. **Circulation**, v.100, p.1872-1878, 1999.

RAUDALES, J.C. **Uso de stents coronarianos recobertos de heparina em pacientes de alto risco**. 87f. 2000. Tese (Doutorado em Medicina) - Faculdade Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2000.

RAUDALES, J.C. et al. Placa coronária aterosclerótica vulnerável: estado atual. **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, v.14, n.3, p.314-323, 2006.

ROUBIN, G.S. et al. (Eds). **Interventional cardiovascular medicine**. Principles and practice. New York: Churchill Livingstone, 1994.

SCHWARTZ, R.S. et al. Restenosis after balloon angioplasty: a practical proliferative model in porcine coronary arteries. **Circulation**, v.82, p.2190-2200, 1990.

SCHWARTZ, R. et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. **Journal of the American College of Cardiology**, v.19, p.267-274, 1992.

SCHWARTZ, R.S.; KANTOR, B.; HOLMES, D.R. The porcine model of coronary restenosis. In: SIMON, D.I.; ROGERS, C. (Eds). **Vascular disease and injury**. Preclinical research. New Jersey: Humana Press, 2001.

SUZUKI, T. et al. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. **Circulation**, v.104, p.1188-1193, 2001.

UNITED STATES FOOD AND DRUG ADMINISTRATION..Guidelines for the submission of research and marketing applications for interventional cardiology devices. 1994.

Lista de abreviaturas

ACTP	ANGIOPLASTIA CORONÁRIA TRANSLUMINAL PERCUTÂNEA
COBEA	COLÉGIO BRASILEIRO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
DAC	DOENÇA ARTERIAL CORONÁRIA
DES	DRUG ELUTING STENTS (STENTS ELUIDORES DE DROGAS)
FDA	FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (ÓRGÃO REGULATÓRIO AMERICANO)
ICP	INTERVENÇÃO CORONÁRIA PERCUTÂNEA
IVUS	INTRAVASCULAR ULTRASOUND (ULTRA-SOM INTRAVASCULAR)
LDL-C	LOW DENSITY LYPPOPROTEIN- CHOLESTEROL (MAU COLESTEROL)
PCI	PERCUTANEOUS CORONARY INTERVENTION
PTCA	PERCUTANEOUS TRANSLUMINAL CORONARY ANGIOPLASTY
QCA	QUANTITATIVE CORONARY ANGIOGRAPHY (ANGIOGRAFIA CORONÁRIA QUANTITATIVA)
RIS	REESTENOSE INTRA-STENT