

Artículo original

La reestenosis en el *stent* depende del daño vascular inducido. ¿Son válidos los modelos experimentales actuales de análisis de los *stents* farmacoactivos?

Alejandro Diego^{a,*}, Armando Pérez de Prado^a, Carlos Cuellas^a, Claudia Pérez-Martínez^a, Manuel Gonzalo-Orden^a, Jose R. Altonaga^a, Antonio de Miguel^a, Marta Regueiro^a, Jose Ajenjo^a, Fernando Sánchez-Lasheras^b, Ángel Álvarez-Arenal^b y Felipe Fernández-Vázquez^a

^aFundación Investigación Sanitaria e Instituto de Biomedicina (IBIOMED) de León, Complejo Asistencial Universitario, León, España

^bUniversidad de Oviedo, Oviedo, Asturias, España

Historia del artículo:

Recibido el 5 de noviembre de 2010

Aceptado el 17 de marzo de 2011

On-line el 22 de junio de 2011

Palabras clave:

Stent farmacoactivo
Respuesta proliferativa
Reestenosis
Paclitaxel
Modelo porcino

Keywords:

Drug-eluting stent
Proliferative response
Restenosis
Paclitaxel
Swine model

RESUMEN

Introducción y objetivos: Los *stents* farmacoactivos son una herramienta útil para prevenir la reestenosis, pero los mecanismos involucrados en la respuesta proliferativa tras su implante aún no son conocidos en su totalidad. El objetivo de este estudio es comparar la histomorfometría vascular coronaria tras el implante de *stents* sin recubrir o *stents* farmacoactivos en un modelo porcino.

Métodos: En 20 hembras de cerdos de la raza Large White de 2 meses de edad se implantó de forma aleatoria un total de 60 *stents* distribuidos en dos grupos: convencionales (n = 20) y farmacoactivos (paclitaxel) (n = 40). A los 28 días se procedió a eutanasia y análisis histomorfométrico. Se clasificó el grado de daño vascular en función de integridad o rotura de la túnica limitante elástica interna.

Resultados: En el grupo de integridad de lámina elástica interna no se encontraron diferencias significativas entre *stents* farmacoactivos y *stents* convencionales para las variables área de neointima y porcentaje de reestenosis (1,3 [1,1-2,2] frente a 2 [1,3-2,5] mm²; p = 0,6; y 14 [12,1-20,8] frente a 22,2 [14,1-23,3] %; p = 0,5). En cambio, en el grupo de rotura de la lámina elástica interna sí se encontraron diferencias significativas (área de neointima, 1,2 [0,8-2] frente a 2,9 [2,3-3,7] mm²; p = 0,001 y porcentaje de reestenosis, 16,63 [11,2-23,5] frente a 30,4 [26,4-45,7] %; p = 0,001).

Conclusiones: En el modelo porcino de coronarias sanas, la integridad de la lámina elástica interna no permite apreciar diferencias en la respuesta proliferativa entre *stent* farmacoactivo y convencional; la diferencia se establece sólo cuando el daño vascular es más profundo.

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Instent Restenosis Related to Vessel Injury Score Degree. Are Current Experimental Models Valid for Drug-Eluting Stents Analysis?

ABSTRACT

Introduction and objectives: Drug-eluting stents are useful for preventing restenosis, but the patho-physiological processes involved in the proliferative response after implantation are still not known in detail. The aim of this study is to compare the coronary vascular histomorphometry after implanting drug-eluting stents and bare metal stents in a swine model.

Methods: Sixty stents were randomly implanted in 20 Large White female pigs with a ratio of baremetal/drug-eluting stents of 1:2. After 28 days, euthanasia and histomorphometry were performed. We defined the vessel injury score in accordance to whether the internal elastic lamina was intact or ruptured.

Results: There were no differences between drug-eluting stents and bare metal stents in the intact internal elastic lamina group regarding neointimal area or % restenosis (1.3 [1.1-2.2] vs 2.0 [1.3-2.5] mm²; P=.6; and 14.0 [12.1-20.8] vs 22.2 [14.1-23.3] %; P=.5). We assessed statistically significant differences for the ruptured internal elastic lamina group, (neointimal area 1.2 [0.8-2.0] vs 2.9 [2.3-3.7] mm²; P=.001 and % restenosis 16.63 [11.2-23.5] vs 30.4 [26.4-45.7] %; P=.001).

Conclusions: In our swine model, we did not find any differences between proliferative response of drug-eluting stents and bare metal stents when the internal elastic lamina is intact; differences are only found when vascular injury is deeper.

Full English text available from: www.revespcardiol.org

© 2010 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

VÉASE CONTENIDO RELACIONADO:

DOI: 10.1016/j.recesp.2011.05.010, Rev Esp Cardiol. 2011; 64:739-42.

* Autor para correspondencia: Sección de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista, Servicio de Cardiología, Hospital de León, Altos de Nava s/n, 24071 León, España. Correo electrónico: alejandrodiego@secardiologia.es (A. Diego).

Abreviaturas

AL: área luminal
 AN: área de neointima
 IS: *Injury Score*
 SC: *stent* convencional
 SFA: *stent* farmacológico

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, el modelo porcino de coronarias sanas es el modelo animal experimental considerado como estándar en la evaluación de las distintas plataformas, polímeros y principios de los *stents* liberadores de fármaco, tanto por la conocida similitud anatómica y fisiológica como por la rápida evolución de los procesos biológicos en este animal.

Esta similitud entre humanos y los modelos porcinos no se limita a la anatomía y la fisiología, sino que también se extiende al sistema de reparación tisular de las lesiones producidas a nivel miocárdico¹⁻³ y la respuesta proliferativa o reestenosis tras la implantación de un *stent* coronario³⁻⁵.

Esta respuesta proliferativa, principal determinante del resultado a largo plazo de los *stents*, ha sido considerablemente disminuida con la introducción de los *stents* farmacológicos (SFA). De todos modos, a pesar de los resultados alentadores de los ensayos clínicos⁶⁻¹⁰, durante los últimos años se ha planteado la posibilidad de que los SFA, por su mecanismo de acción, puedan presentar tasas superiores de trombosis tardía secundaria a problemas, como la retirada de terapia antiagregante¹¹, la mala posición tardía¹², la falta de endotelización¹³ o la inflamación crónica^{14,15}. Es por este motivo que la valoración en el modelo experimental de la reacción endotelial e intimal de los nuevos dispositivos antes de su salida al mercado ha experimentado un incremento de su relevancia.

En este sentido, el estudio histomorfométrico de los *stents* a los 28 días de su implante es un capítulo obligatorio en la evaluación preclínica de estos dispositivos. Los factores que puedan modificar la respuesta biológica al implante de diferentes dispositivos intravasculares en este modelo experimental han de ser tenidos en cuenta muy cuidadosamente antes de trasladar las conclusiones de los estudios experimentales al humano.

Si bien la relación entre grado de daño vascular y reestenosis es un fenómeno descrito¹⁶, los estudios preclínicos no siempre aportan este dato por la dificultad que entraña su adquisición.

El objetivo de este estudio fue estudiar las diferencias observadas en un modelo de *stent* coronario porcino entre *stents* convencionales y SFA y relacionarlas con el grado de daño vascular inducido durante el implante.

MÉTODOS

Muestra

Se seleccionaron 20 animales hembra de la raza porcina Large White de 2 meses de edad para un peso de 25-30 kg. Todo su manejo se realizó cumpliendo la legislación vigente de la Unión Europea en materia de experimentación animal, siguiendo las directrices establecidas en el RD 223/98, de 14 de marzo, sobre protección de animales utilizados para experimentación y otros fines científicos.

Se realizó implante múltiple de *stents* en los segmentos proximales de las tres arterias coronarias para obtener un tamaño muestral total de 60 segmentos tratados.

Además, se realizaron 22 extracciones de segmentos arteriales no tratados para ser utilizados como grupo control de las variables histomorfométricas de arterias sanas.

Procedimiento

Medicación y monitorización

El día previo al procedimiento los animales eran aislados y se iniciaba medicación antiagregante oral con 100 mg de ácido acetilsalicílico y dosis de carga de 300 mg de clopidogrel. Posteriormente, se mantuvo dosis de mantenimiento de 100 mg y 75 mg, respectivamente, cada 24 h durante todo el tiempo de seguimiento, así como 20 mg/kg de ciprofloxacino como profilaxis antibiótica.

El día del procedimiento, se premedicó a los animales con 0,35 mg/kg de midazolam, 5 mg/kg de ketamina y 0,02 mg/kg de atropina vía intramuscular. Una vez comprobado que el grado de sedación era el adecuado, se procedió a inducción anestésica con propofol, a dosis de 2 a 4 mg/kg vía intravenosa lenta, intubación endotraqueal y conexión a sistema de ventilación controlada por volumen y manteniendo la anestesia con isoflurano al 2%.

Durante todo el procedimiento se realizó monitorización de pulsioximetría, electrocardiografía y presión arterial invasiva. Como medicación intraoperatoria se administraron 5.000 UI de heparina sódica, 2,5 mg/kg de cefquinona vía intramuscular como antibioterapia profiláctica y 0,01 mg/kg de buprenorfina vía intramuscular como medida analgésica.

Implante

Tras acceso quirúrgico a la arteria carótida derecha, se procedió a canalizarla con introductor arterial de 6 F y cateterización selectiva de los *ostia* coronarios con catéter guía tipo Amplatz modificado específicamente diseñado para este estudio (Iberhospitex, S.A.), que permite la canalización adecuada de ambos *ostia* con el mismo catéter. Tras avance de la guía hacia el lecho distal, se procedió al implante de *stents* siguiendo una tabla de asignación aleatoria previamente diseñada.

Todos los *stents* implantados fueron de iguales calibre y longitud (3,5 × 18 mm) y se les aplicó una presión de inflado del balón suficiente para alcanzar una relación diámetro del *stent*:diámetro de la arteria de entre 1,2:1 y 1,3:1 (entre 12 y 16 atmósferas, siendo la presión nominal del dispositivo de 10 atmósferas). En total se implantaron 60 *stents* distribuidos en dos grupos:

- GRUPO SC: 20 segmentos arteriales con *stent* convencional.
- GRUPO SFA: 40 segmentos arteriales con *stent* recubierto de paclitaxel.

Eutanasia

Al cabo de 28 días de seguimiento se procedió al sacrificio mediante la administración intravenosa del agente T61® (0,3 ml/kg; Intervet, España), previa sedación con midazolam (0,35 mg/kg) y ketamina (5 mg/kg) administrados vía intramuscular. Se suministró una dosis de 10.000 UI de heparina sódica para facilitar la limpieza de los preparados.

Las arterias coronarias se perfundieron *in situ* con suero salino tamponado con fosfato a una presión aproximada de

100-110 mmHg. Tras ello, se realizó su disección de la superficie epicárdica, respetando los 5 mm proximales y distales al *stent*. A continuación, se procedió a su fijación en formol tamponado al 10% durante 24-48 h a temperatura ambiente.

Análisis histomorfométrico

Para su estudio histológico, las secciones se incluyeron en resina y, tras el corte con micrótopo, se tiñeron mediante la técnica de tricómico de Masson y técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas y posterior análisis histomorfométrico a un aumento fijo ($\times 15$), mediante un microscopio estereoscópico trifocal (Olympus SZ61) con cámara digital incorporada conectada a sistema de computación. Para la adquisición de las imágenes se utilizaron las herramientas proporcionadas por el programa de análisis de imágenes Image-Pro Plus 4.0 (Media Cybernetics S.A.) (fig. 1).

Se obtuvieron las siguientes medidas directas o primarias:

- LEE: área incluida dentro de la lámina elástica externa.
- LEI: área delimitada por la lámina elástica interna.
- AL: área ocupada por la luz de la arteria.

A partir de estas áreas se calculaban cuatro nuevas medidas indirectas o secundarias:

- ATM: área de la túnica media (LEE-LEI).
- AN: área de la neointima (LEI-AL).
- Porcentaje de reestenosis por área: $[1 - (AL / LEI)] \times 100$ (porcentaje de neointima que ocupa el área de la LEI).

- Índice AN/LEE (relación entre el AN y el área de LEE).

También para cada corte se calculó el grado de daño vascular o *Injury Score* (IS) de cada uno de los *struts* del *stent*, únicamente atendiendo a la integridad o no de la LEI (según el IS modificado de las clasificaciones de Schwartz et al¹⁶ y Gunn et al¹⁷), de tal forma que se consideró IS-1 ante integridad de lámina limitante elástica interna e IS-2 ante su rotura.

Toda la evaluación histomorfométrica fue realizada por un anatomopatólogo cualificado que en todo momento desconocía a qué tipo de *stent* correspondían los cortes.

Análisis estadístico

La estadística descriptiva univariable se resolvió con medidas de tendencia central y dispersión cuando los datos eran cuantitativos y con frecuencias/porcentajes cuando eran cualitativos.

La normalidad de las variables se determinó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov.

En la estadística analítica bivariable se emplearon pruebas paramétricas y no paramétricas según procedía. En las pruebas paramétricas para la comparación de las variables cualitativas se empleó el test de la χ^2 y para la comparación de variables cuantitativas, el test ANOVA con el test de comparaciones múltiples *a posteriori* de Tukey. La homogeneidad de las varianzas se determinó mediante el test de Barlett. Para todos los análisis se consideraron las diferencias como estadísticamente significativas si $p = 0,05$.

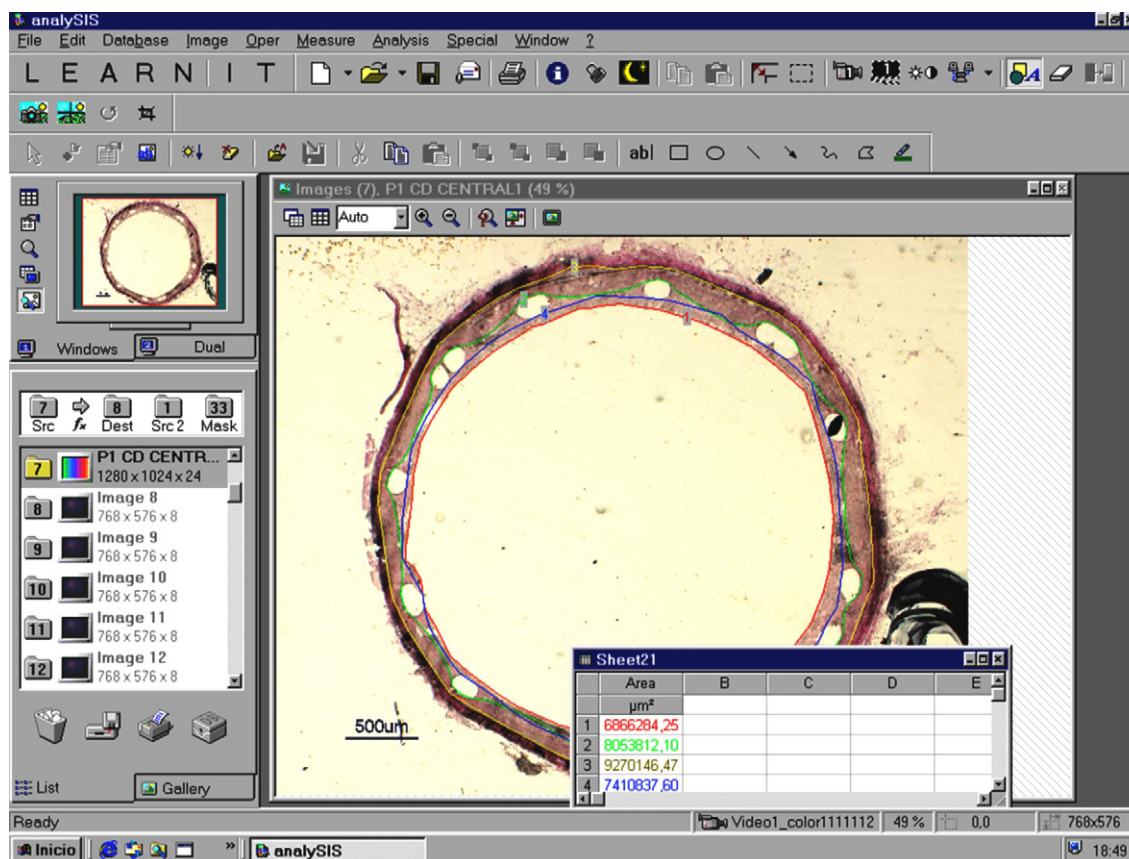


Figura 1. Ejemplo de análisis histomorfométrico, cuantificación computarizada de áreas. Captura de pantalla del programa Image-Pro Plus 4.0 (Media Cybernetics S.A.) durante el análisis de una de las muestras con *stent* implantado.

Análisis multivariable

Para añadir una mayor consistencia a los datos se comprobó a través de un modelo de regresión lineal la correlación y la significación de las diferentes variables histomorfométricas y su proporcionalidad al grado de daño vascular.

El estudio de la influencia de las variables discretas sobre el grado de reestenosis y de AN se realizó mediante la aplicación de modelos multivariados de *splines* adaptativos regresivos (MARS).

La explotación de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS versión 15.0 (<http://www.spss.com/es/>) para Windows y el programa Minitab versión 15.0 (<http://www.minitab.com/es-ES/default.aspx>).

RESULTADOS

Procedimiento

La tasa de éxito primario del procedimiento fue del 100%. Fallecieron 2 animales (con 6 segmentos tratados con *stent* en total) a las pocas horas tras el procedimiento por causa arrítmica y se completó el seguimiento de 4 semanas en los 18 animales restantes.

Además, se eliminaron del análisis 10 segmentos arteriales: 7 por sobreexpansión del *stent* que rompió la capa media (3 casos) y adventicia (4 casos) de la arteria, con una gran reacción granulomatosa. Otros 3 segmentos se destruyeron en el proceso de inclusión en resina.

Por lo tanto, el análisis final se realizó sobre 18 animales y 44 segmentos arteriales tratados, más 22 segmentos arteriales no tratados como controles sanos.

Histomorfometría

Grupo control: se extrajeron 22 segmentos arteriales proximales a las zonas de implante para servir como grupo control (fig. 2). Al no presentar *stent*, las variables LEI y AL coinciden. Las características observadas se resumen en la tabla 1.

Grupo de estudio: en los segmentos tratados se encontró un incremento significativo del tamaño del vaso con respecto a los segmentos control. No se encontraron diferencias en el grado de



Figura 2. Corte histológico de una arteria coronaria porcina sana (segmento proximal) × 10 aumentos tras tinción con hematoxilina-eosina y tinción de Van-Gieson, que permite la visualización de las 3 capas arteriales, así como las láminas limitantes elástica interna y externa (en negro).

Tabla 1

Características histomorfométricas de una arteria coronaria porcina sana (n = 22)

VARIABLES	Mediana [intervalo intercuartílico]
LEE (mm ²)	3,64 [2,94-4,45]
LEI (mm ²)	2,44 [1,83-2,68]
ATM (mm ²)	1,36 [1-1,76]
AL (mm ²)	2,44 [1,83-2,68]

AL: área luminal; ATM: área de la túnica media; LEE: lámina elástica externa; LEI: lámina elástica interna.

Tabla 2

Tabla de contingencia de daño vascular en función de la arteria tratada

	Arteria circunfleja	Coronaria derecha	Descendente anterior	Total
IS-1	6	12	6	24
IS-2	8	4	8	20
Total	14	16	14	44

IS: Injury Score.
 $\chi^2 = 4,243$; $p = 0,12$.

daño vascular en función de la arteria tratada (tabla 2) y se graduó como IS-1, con integridad de la LEI en el 55% de los casos e IS-2 en el 45%.

Al comparar los SC con los SFA, independientemente del grado de daño vascular, los *stents* liberadores de paclitaxel presentaron significativamente menor AN y reestenosis y mayor AL que los *stents* sin recubrir (AN, 1,26 [0,99-2,09] frente a 2,54 [2,26-3,14] mm²; $p < 0,001$. Reestenosis, 15,4 [12,13-21,44] frente a 29 [23,54-38,66] %; $p < 0,001$; AL, 7,84 [6,87-8,24] frente a 5,96 [5,14-6,94]; $p = 0,006$).

Analizados en función del grado de daño vascular (fig. 3), los segmentos con daño vascular más profundo (IS-2) presentaron un menor tamaño de luz vascular y un mayor porcentaje de reestenosis con respecto al grupo de IS-1 (tabla 3). En cuanto al tipo de *stent* implantado, en el grupo de IS-1 no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de proliferación neointimal, mientras que estas diferencias sí aparecieron, y de forma estadísticamente significativa, dentro del grupo de IS-2 (tabla 4).

Análisis multivariable

Se realizó un modelo de regresión lineal de la variable reestenosis calculado en función de las variables LEI, LEE, ATM, AN, AL, AN/LEE y presión de inflado (PI). Una vez eliminadas las variables que presentaban valor más elevado del coeficiente p, se adquirió un modelo óptimo formado por las variables ATM, AL y AN/LEE, con un R² del 98,9% (el mismo valor que el modelo realizado con las siete variables).

Al analizar cómo la presencia o ausencia de paclitaxel influía en la variable reestenosis, se observó que la presencia de paclitaxel, de forma independiente, disminuyó el grado de reestenosis, si bien este efecto era más apreciable a mayor grado de daño vascular, como queda reflejado en la figura 4.

Se efectuó, a su vez, un modelo MARS de la variable «reestenosis» en función de LEE, LEI, AL, ATM, AN, AN/LEE, PI, tipo de *stent*, IS y arteria tratada. Este modelo permite no sólo incluir las variables continuas, sino también las discretas, que este tipo de modelos puede procesar de forma adecuada. Tras la etapa inicial de descarte de variables, el modelo MARS resultante sólo encontró como significativas las variables AN/LEE, LEI, AN, ATM e IS.

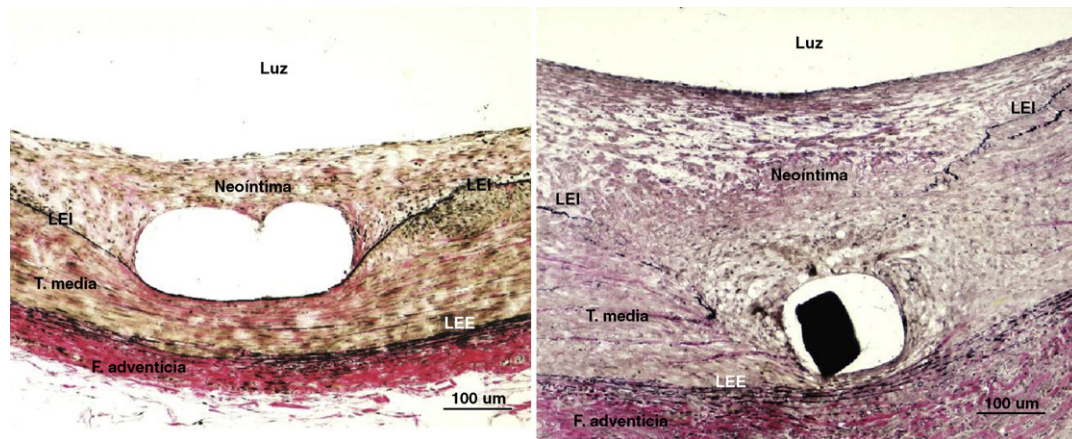


Figura 3. Histología. Cortes $\times 100$ aumentos con tinción con hematoxilina-eosina más tinción de Van-Gieson sobre la zona de aposición de uno de los *struts* para la identificación de la lámina elástica interna. A la izquierda, daño vascular tipo 1 (integridad de la lámina elástica interna). A la derecha, daño vascular tipo 2 (rotura de lámina elástica interna). LEE: lámina elástica externa; LEI: lámina elástica interna.

Tabla 3
Características histomorfológicas de los segmentos tratados en función del daño vascular

	IS-1 (n=24)	IS-2 (n=20)	p
LEE (mm ²)	11,04 [10,24-12,27]	10,99 [9,48-12,13]	0,005
LEI (mm ²)	9,4 [8,69-10,35]	8,57 [7,54-9,36]	0,01
ATM (mm ²)	1,81 [1,47-2,07]	1,61 [1,43-1,7]	0,044
AN (mm ²)	1,37 [1,13-2,32]	2,3 [1,24-3,06]	0,062
AL (mm ²)	8,03 [7,29-8,36]	6,03 [4,98-7,18]	0,001
PI (atm)	14 [12,25-15,75]	14 [13-16]	0,461
AN/LEE	0,13 [0,1-0,19]	0,22 [0,14-0,31]	0,003
Reestenosis (%)	15,27 [12,09-22,34]	26,38 [17,33-35,17]	0,003

AL: área luminal; AN: área de neointima; AN/LEE: índice entre área de neointima y área de lámina elástica externa; ATM: área de la túnica media; IS: *Injury Score*; LEE: lámina elástica externa; LEI: lámina elástica interna; PI: presión de implante. Los resultados de las variables se expresan como mediana [intervalo intercuartílico].

DISCUSIÓN

Modelo

En la actualidad no existe un modelo animal ideal de enfermedad cardiovascular humana, aunque el daño vascular y la respuesta proliferativa neointimal en el modelo porcino de lesión de la arteria coronaria y en el modelo de lesión de la arteria iliaca de conejo son similares a los procesos que ocurren durante la reestenosis humana^{16,18}. A pesar de que el daño vascular provocado en las arterias de ambos modelos difiere del provocado en las arterias ateroscleróticas humanas, los estudios experimentales señalan una importante relación entre inflamación, daño vascular y crecimiento neointimal, al igual que sucede en las

arterias coronarias humanas^{19,20}. Los resultados histológicos de este estudio confirman que la respuesta proliferativa observada es proporcional al daño vascular provocado por la sobreexpansión del *stent*.

Daño vascular

El hallazgo más interesante de este estudio es la relación encontrada entre la profundidad del daño vascular durante el implante del *stent* y la reacción proliferativa de la íntima o, lo que es lo mismo, entre el IS y la reestenosis.

En nuestra muestra el daño vascular se graduó como IS-1 en un 55% de los casos y como IS-2 en un 45%. En esta línea, nuestros datos están de acuerdo con los datos publicados por Gunn et al¹⁷ que mostraron, en modelos porcinos, que la compresión de la capa media con integridad de la LEI era incluso más frecuente que daños vasculares más profundos.

Según esta teoría, esta compresión de la túnica media debe considerarse como el «estímulo global» más importante tras el daño vascular de grado moderado y, lo que es más trascendente, tiene una correlación positiva con la intensidad de la respuesta de formación de neointima. Nuestros resultados confirman, pues, que la variabilidad de la respuesta proliferativa es proporcional al grado de daño vascular, a pesar de que en el grupo de SFA esta respuesta se encuentre atenuada.

La explicación a los posibles mecanismos por los que la compresión de la capa túnica media induce proliferación neointimal se centra en que el impacto del *stent* comprime las células musculares lisas alrededor de cada *strut*, pudiendo llegar a causar atrofia de la media y las células muertas, ya sea por necrosis o por apoptosis, entonces pueden desencadenar los procesos biológicos de cicatrización que conducen a la formación de neointima. Otra posibilidad es que la compresión sea transmitida

Tabla 4
Características histomorfológicas de los segmentos tratados en función del daño vascular y el tipo de *stent* implantado

	IS-1		p	IS-2		p
	SFA (n=20)	SC (n=4)		SFA (n=9)	SC (n=11)	
AN (mm ²)	1,32 [1,1-2,15]	2,02 [1,26-2,49]	0,6	1,22 [0,8-1,95]	2,9 [2,27-3,66]	0,001
AL (mm ²)	7,91 [7,29-8,35]	8,21 [6,51-8,6]	0,99	7,26 [5,17-8,15]	5,4 [4,93-6,48]	0,054
Reestenosis (%)	13,96 [12,09-20,8]	22,23 [14,07-23,27]	0,45	16,63 [11,16-23,47]	30,44 [26,38-45,74]	0,001

AL: área luminal; AN: área de neointima; IS: *Injury Score*; SC: *stent* convencional; SFA: *stent* farmacológico. Los resultados de las variables se expresan como mediana [intervalo intercuartílico].

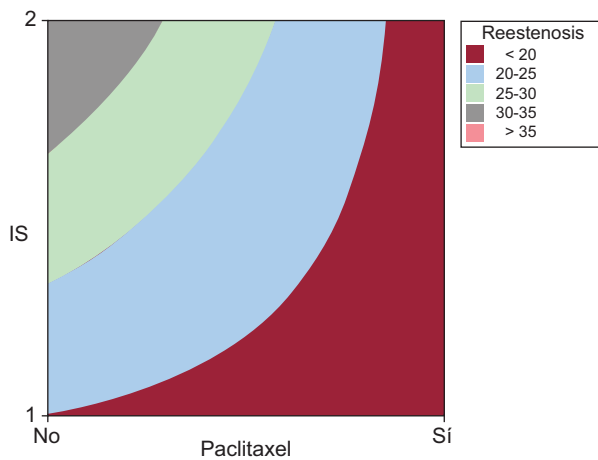


Figura 4. Gráfico de contorno realizado mediante el *software* estadístico Minitab15.0 de las variables *Injury Score* y paclitaxel frente a la variable reestenosis, que muestra la relación proporcional de influencia del daño vascular durante el implante y la presencia o ausencia de fármaco en el *stent* sobre el grado de respuesta proliferativa neointimal. Se observa que los valores más altos de reestenosis pertenecen a los *stents* sin fármaco y con IS cualitativo igual a 2. Nótese que si bien para *stents* sin fármaco el valor de la reestenosis puede tener cualquier valor dentro del rango, los *stents* con fármaco sólo presentan los valores más bajos de reestenosis. IS: *Injury Score*.

célula a célula por moléculas de adhesión o integrinas intracitoplasmáticas que pueden activar quinasas o metaloproteasas que conducen a la proliferación neointimal y/o a la formación de tejido conectivo²¹⁻²³.

Eficacia de los *stents* farmacoactivos

El grupo de SFA tuvo una respuesta proliferativa significativamente menor que el grupo de SC, referido a un incremento de la luz del vaso y una reducción en el AN y de la reestenosis. No obstante, al comparar los *stents* con o sin paclitaxel en función del grado de daño vascular, las diferencias significativas en las variables de proliferación se mantienen exclusivamente en el subgrupo de mayor daño vascular. Así, al comparar independientemente cada grupo en función del daño vascular, el grupo de SC mostró diferencias significativas en las variables de proliferación, pero no así el grupo con fármaco.

Un estudio recientemente publicado por Eshtehardi et al²⁴, realizado en humanos tras implante de SFA, mostró precisamente una ausencia de relación entre el grado de daño vascular analizado mediante ultrasonografía intravascular y la respuesta proliferativa al utilizar este tipo de *stents*. Esto refuerza la conclusión de que la presencia de fármaco en el dispositivo implantado inhibe eficazmente la respuesta proliferativa desencadenada por la agresión vascular, de manera que tras el implante de SFA no se encuentran diferencias en cuanto a reestenosis entre los grupos con o sin rotura de la LEI, ya que esta se encuentra muy atenuada.

Según esto, en nuestro estudio podemos afirmar que el *stent* recubierto de paclitaxel es significativamente superior al *stent* sin recubrir en términos globales de eficacia antiproliferativa, con una reducción del 55% de la hiperplasia neointimal y del 52% de reestenosis; sin embargo, cuando existe integridad de la LEI, no se aprecia un beneficio significativo con respecto al SC.

Al aplicar los modelos de análisis multivariable a los datos obtenidos en este modelo, comprobamos que la respuesta proliferativa de los SFA en función del daño vascular no guarda el mismo grado de proporcionalidad que los *stents* convencionales, pues a partir de un punto de corte definido por la rotura de la LEI la

respuesta proliferativa está marcada no por el grado de daño vascular, sino por la eficacia antiproliferativa del fármaco. Esta observación, aparentemente obvia, conlleva implicaciones clínicas y de eficiencia considerables, pues aunque en la práctica clínica no es una situación frecuente, cuando existe integridad de la LEI no existiría un beneficio adicional significativo con el uso de SFA.

Teniendo en cuenta estos datos a la hora de diseñar los estudios experimentales preclínicos, el grado de daño vascular durante el implante debe ser minuciosamente evaluado para tener en cuenta su posible modificación de la reacción proliferativa de la íntima.

Algunos autores señalan que la integridad de la LEI ejerce de barrera y previene la migración de las células musculares lisas o sus progenitoras y que con su rotura se perdería esta función^{25,26}. Hasta hace poco se admitía que la reestenosis condicionaba un cambio fenotípico de las células musculares lisas, desde células contráctiles hacia células con capacidad de síntesis. Sin embargo, se está incrementando la evidencia de que los componentes celulares de la neointima se originan desde los miofibroblastos adventiciales²⁶⁻²⁹ o de células madre derivadas de la médula ósea que migran a través de la adventicia a las capas media e íntima^{30,31}, por lo que parece lógico suponer que, a mayor proximidad de la agresión vascular a esta zona, mayor será el estímulo proliferativo.

Es posible que en el futuro estas observaciones lleven la investigación sobre SFA hacia la búsqueda de distintos mecanismos de liberación del fármaco que puedan hacerlo más efectivo.

Limitaciones del estudio

Este trabajo presenta las limitaciones propias de los modelos experimentales de reestenosis en mamífero grande, como son el relativamente escaso número de animales de experimentación, la utilización exclusivamente de animales hembras para evitar la mortalidad arrítmica y el hecho de inducir una lesión sobre una arteria sana. Si bien la respuesta proliferativa obtenida permite evaluar la actividad del fármaco, desconocemos si este efecto sería el mismo en coronarias con alto contenido de material ateroclerótico y en las que, por lo tanto, aparecen ya de forma espontánea zonas de fragmentación de la LEI como parte del proceso global de inflamación de la placa, especialmente en caso de placa vulnerable³², y presentan participación de otros mediadores bioquímicos en el proceso de reparación vascular. Además, otros factores moleculares o genéticos de los pacientes con aterosclerosis como la mayor presencia de lipoproteínas de baja densidad oxidadas, la hiperglucemia o la hipertensión arterial, pueden intervenir directamente en el proceso. A pesar de ello, el modelo coronario porcino sigue siendo el recomendado por consenso para la evaluación de este tipo de dispositivos.

CONCLUSIONES

Los *stents* coronarios recubiertos de paclitaxel disminuyen de forma significativa la reestenosis con respecto a los *stents* sin recubrir en un modelo experimental porcino. Esta diferencia en la intensidad de la respuesta proliferativa se establece en los casos de daño vascular profundo con rotura de la LEI durante el implante. Sin embargo, este beneficio no es objetivable en el caso de que la LEI permanezca íntegra.

Estos datos deberán ser tenidos en cuenta a la hora de plantear el diseño y análisis de futuros estudios experimentales dirigidos a evaluar la capacidad antiproliferativa de los diferentes fármacos citostáticos utilizados en la prevención de la reestenosis de dispositivos intracoronarios.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- Bloor BC, Frankland M, Alper G, Raybould D, Weitz J, Shurtliff M. Hemodynamic and sedative effects of dexmedetomidine in dog. *J Pharmacol Exp Ther*. 1992;263:690-7.
- Gal D, Chokshi SK, Mosseri M, Clarke RH, Isner JM. Percutaneous delivery of low-level laser energy reverses histamine-induced spasm in atherosclerotic Yucatan microsine. *Circulation*. 1992;85:756-68.
- Swindle MM, Smith AC, Goodrich JA. Chronic cannulation and fistulization procedures in swine: a review and recommendations. *J Invest Surg*. 1998;11:7-20.
- White FC, Bloor CM. Coronary vascular remodeling and coronary resistance during chronic ischemia. *Am J Cardiovasc Pathol*. 1992;4:193-202.
- Stanley WC. In vivo models of myocardial metabolism during ischemia: application to drug discovery and evaluation. *J Pharmacol Toxicol Methods*. 2000;43:133-40.
- 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;346:1773-80.
- Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, et al. Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. *Circulation*. 2003;108:788-94.
- Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U, et al. TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions. *Circulation*. 2003;107:38-42.
- Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med*. 2003;349:1315-23.
- 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;109:1942-7.
- 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;364:1519-21.
- Kozuma K, Costa MA, Sabate M, Serrano P, Van der Giessen WJ, Ligthart JM, et al. Late stent malapposition occurring after intracoronary beta-irradiation detected by intravascular ultrasound. *J Invasive Cardiol*. 1999;11:651-5.
- Jakabcin J, Bystron M, Spacek R, Veselka J, Kvasnak M, Kala P, et al. The lack of endothelialization after drug-eluting stent implantation as a cause of fatal late stent thrombosis. *J Thromb Thrombolysis*. 2008;26:154-8.
- Farb A, Heller PF, Shroff S, Cheng L, Kolodgie FD, Carter AJ, et al. Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent. *Circulation*. 2001;104:473-9.
- Van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, Van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes Jr DR, et al. Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries. *Circulation*. 1996;94:1690-7.
- Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, et al. Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19:267-74.
- 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;88:401-5.
- 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;31:224-30.
- Schwartz RS, Henry TD. Pathophysiology of coronary artery restenosis. *Rev Cardiovasc Med*. 2002;3Suppl5:S4-49.
- Farhan S, Hemetsberger R, Matiasek J, Strehlow C, Pavo N, Khorsand A, et al. Implantation of paclitaxel-eluting stent impairs the vascular compliance of arteries in porcine coronary stenting model. *Atherosclerosis*. 2009;202:144-51.
- Garasic JM, Edelman ER, Squire JC, Seifert P, Williams MS, Rogers C. Stent and artery geometry determine intimal thickening independent of arterial injury. *Circulation*. 2000;101:812-8.
- Yang LX, Zhu J, Wang HJ, Holton RA. Enhanced apoptotic effects of novel paclitaxel analogs on NCI/ADR-RES breast cancer cells. *Anticancer Res*. 2003;23:3295-301.
- Zou Y, Dietrich H, Hu Y, Metzler B, Wick G, Xu Q. Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis. *Am J Pathol*. 1998;153:1301-10.
- Eshthardi P, Cook S, Wandel S, Räber L, Wenaweser P, Togni M, et al. Impact of arterial injury on neointimal hyperplasia after implantation of drug-eluting stents in coronary arteries: an intravascular ultrasound study. *EuroIntervention*. 2010;6:467-74.
- Bauters C, Lablanche JM, Van Belle E, Niculescu R, Meurice T, Mc Fadden EP, et al. Effects of coronary stenting on restenosis and occlusion after angioplasty of the culprit vessel in patients with recent myocardial infarction. *Circulation*. 1997;96:2854-8.
- Hu Y, Zhang Z, Torsney E, Afzal AR, Davison F, Metzler B, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest*. 2004;113:1258-65.
- Li G, Chen SJ, Oparil S, Chen YF, Thompson JA. Direct in vivo evidence demonstrating neointimal migration of adventitial fibroblasts after balloon injury of rat carotid arteries. *Circulation*. 2000;101:1362-5.
- Scott NA, Cipolla GD, Ross CE, Dunn B, Martin FH, Simonet L, et al. Identification of a potential role for the adventitia in vascular lesion formation after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries. *Circulation*. 1996;93:2178-87.
- Shi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries. *Circulation*. 1996;94:1655-64.
- Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, Kawarabayashi T, Yoshiyama M, Yoshikawa J. Circulating monocytes and in-stent neointima after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:18-23.
- Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, et al. Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis. *Nat Med*. 2002;8:403-9.
- Chatzizisis YS, Jonas M, Coskun AU, Beigel R, Stone BV, Maynard C, et al. Prediction of the localization of high-risk coronary atherosclerotic plaques on the basis of low endothelial shear stress: an intravascular ultrasound and histopathology natural history study. *Circulation*. 2008;117:993-1002.