

Artículo original

Seguridad y eficacia de nuevos modelos de *stents* liberadores de sirolimus en el modelo preclínico



Rodrigo Estévez-Loureiro^{a,*}, Armando Pérez de Prado^a, Claudia Pérez-Martínez^a, Carlos Cuellas-Ramón^a, Marta Regueiro-Purriños^a, José M. Gonzalo-Orden^a, María López-Benito^a, María Molina-Crisol^b, Luis Duocastella-Codina^b y Felipe Fernández-Vázquez^a

^a Grupo Cardiovascular (HemoLeon), Fundación Investigación Sanitaria en León y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León, Hospital de León, León, España

^b Life Vascular Devices (LVD) Biotech, iVascular, Barcelona, España

Historia del artículo:

Recibido el 17 de diciembre de 2014

Aceptado el 18 de febrero de 2015

On-line el 21 de julio de 2015

Palabras clave:

Modelo preclínico

Stent liberador de fármaco

Restenosis

Reparación vascular

RESUMEN

Introducción y objetivos: En el proceso de mejora de los polímeros, las plataformas y los sistemas de liberación de fármacos en los nuevos diseños de *stents* farmacoactivos, el análisis preclínico inicial es obligatorio. El objetivo es analizar la eficacia y la seguridad de nuevos modelos de *stents* farmacoactivos en comparación con un *stent* convencional y *stents* farmacoactivos comercializados en el modelo experimental de arteria coronaria sana porcina.

Métodos: Se implantaron aleatoriamente 60 *stents* (*stent* convencional, nuevos *stents* liberadores de sirolimus: *stents* liberadores de fármaco 1, 2 y 3; Cypher[®] y Xience[®]) en las arterias coronarias de 20 cerdos domésticos raza *Large White*. Se realizó estudio angiográfico e histomorfométrico a los 28 días.

Resultados: Los *stents* se implantaron en proporción *stent*/arteria de $1,34 \pm 0,15$, sin diferencias significativas entre grupos. Los nuevos *stents* mostraron menos pérdida tardía y restenosis angiográfica que los convencionales ($p = 0,006$ y $p < 0,001$ respectivamente). Todas las nuevas plataformas presentaron menos área neointimal y restenosis histológica que los *stents* convencionales ($p < 0,001$ para cada variable), sin diferencias con los farmacoactivos comercializados. En cuanto a la seguridad, todos los *stents* farmacoactivos mostraron menos endotelización que los convencionales, salvo el *stent* liberador de fármaco 3 ($p = 0,084$). Asimismo, la inflamación observada fue menor con el *stent* liberador de fármaco 3 que con los demás.

Conclusiones: Las nuevas plataformas de *stents* farmacoactivos estudiadas se asocian con menos restenosis que los convencionales, sin diferencias significativas en seguridad y eficacia respecto a los *stents* farmacoactivos comercializados.

© 2015 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Safety and Efficacy of New Sirolimus-eluting Stent Models in a Preclinical Study

ABSTRACT

Introduction and objectives: Initial preclinical studies are required during the process of improving polymers, platforms, and drug-eluting systems for new coronary stent designs. Our objective was to analyze the efficacy and safety of new drug-eluting stent models compared with a conventional stent and commercialized drug-eluting stents in an experimental model with healthy porcine coronary arteries.

Methods: Sixty stents (conventional stent, new sirolimus-eluting stents: drug-eluting stents 1, 2 and 3; Cypher[®] and Xience[®]) were randomly placed in the coronary arteries of 20 Large White domestic pigs. Angiographic and histomorphometric studies were done 28 days later.

Results: The stents were implanted at a stent/artery ratio of 1.34 ± 0.15 , with no significant differences between groups. The new stents showed less late loss and angiographic restenosis than conventional stents ($P = .006$ and $P < .001$, respectively). Histologically, restenosis and neointimal area were lower with all the new platforms than with the conventional stents ($P < .001$ for each variable), and no differences were found vs the drug-eluting stents on the market. Safety data showed that endothelialization was lower with drug-eluting stents than with conventional stents, except for drug-eluting stent 3 ($P = .084$). Likewise, inflammation was lower with drug-eluting stent 3 than with other stents.

Keywords:

Preclinical model

Drug-eluting stent

Restenosis

Vascular healing

* Autor para correspondencia: Cardiología Intervencionista, Hospital de León, Altos de Nava s/n, 24008 León, España.
Correo electrónico: roiestevez@hotmail.com (R. Estévez-Loureiro).

Conclusions: The new drug-eluting stent platforms studied are associated with less restenosis than conventional stents and showed no significant differences in safety or efficacy vs commercialized drug-eluting stents.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2015 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

DLM: diámetro luminal mínimo
SC: *stent* convencional
SLF: *stent* liberador de fármaco

INTRODUCCIÓN

Los *stents* liberadores de fármaco (SLF) han supuesto uno de los mayores avances en el tratamiento percutáneo de la enfermedad coronaria. Con estos dispositivos se han mostrado de manera consistente menores tasas de revascularización del vaso tratado que con los *stents* convencionales (SC) en un amplio abanico de situaciones clínicas^{1–4}. Sin embargo, el riesgo de trombosis tardía y muy tardía de estos *stents* es todavía hoy motivo de preocupación^{5,6}. Este fenómeno se ha relacionado con el efecto deletéreo del fármaco, el polímero, la plataforma del *stent* o con una combinación de ellos en la pared del vaso, lo cual conduce a endotelización incompleta, reacciones inflamatorias persistentes y desarrollo de neoaterosclerosis^{7–11}.

Para superar estas limitaciones, se han realizado innovaciones en el diseño de las plataformas, la liberación del fármaco, el desarrollo de polímeros más biocompatibles o reabsorbibles e incluso se ha diseñado un SLF completamente reabsorbible^{12–14}. Los modelos preclínicos se han mostrado de gran utilidad a la hora de analizar diferencias entre nuevos dispositivos, puesto que la secuencia de los eventos biológicos asociados con la reparación arterial, como el daño producido por el *stent*, depósito de fibrina, inflamación y proliferación celular, es similar que en seres humanos^{15–17}. El modelo porcino de arteria coronaria sana se ha mostrado como un modelo adecuado para evaluar las respuestas biológicas tras el implante de SC, SLF o balones liberadores de fármacos^{18–20}.

El propósito de este estudio es evaluar la seguridad y la eficacia en relación con la respuesta vascular de tres nuevos diseños de *stents* de polímero permanente liberadores de sirolimus en el modelo preclínico porcino.

MÉTODOS

Modelo animal

En este estudio experimental aleatorizado, controlado y con análisis final ciego, hemos usado 20 cerdos domésticos *Large White* de 2–3 meses de edad y media de peso de 25 ± 3 kg. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la regulación local (RD 53/2013, del 1 de febrero, que hace referencia a los estándares básicos para la protección de animales de experimentación y otros propósitos científicos, incluida la enseñanza) y la Directiva Europea 2010/63/EC. El comité ético local aprobó el estudio antes del inicio de cualquier procedimiento.

El método de aleatorización fue el de asignación estratificada por arterias coronarias mayores, de modo que se implantase cada tipo de *stent* en igual número de arterias.

Se administró a todos los animales tratamiento antiplaquetario con ácido acetilsalicílico (325 mg) y clopidogrel (300 mg) 24 h antes del procedimiento. El protocolo anestésico y la preparación quirúrgica ya se han descrito^{21,22}. Se anestesió a los animales y se les administró tratamiento anticoagulante con 5.000 UI de heparina no fraccionada. La angiografía coronaria se realizó a través de un acceso carotídeo izquierdo, previa administración intracoronaria de nitroglicerina.

Procedimiento de angioplastia

Para implantar los dispositivos con la idea de obtener una relación *stent*/arteria > 1,1, se seleccionaba la mejor localización dentro de las tres arterias coronarias epicárdicas. Tras avanzar una guía intracoronaria, los diferentes tipos de *stents* se implantaban en la zona seleccionada de cada arteria.

Dispositivos analizados

En este estudio se utilizaron los siguientes dispositivos (números entre paréntesis):

1. SC de control (n = 11): *stent* de aleación de cromo-cobalto L605, Architect® (iVascular). La estructura del *stent* está formada por seis coronas unidas por tres filas de conectores concatenados, con lo que se forma una estructura sinusoidal continua (figura 1A).
2. SLF 1 (n = 17): basado en el *stent* metálico Architect®, recubierto de un polímero permanente de la familia de los poliacrilatos y cargado con $1,4 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus con un sistema de liberación lento (con una capa externa polimérica adicional para controlar la liberación del fármaco).
3. SLF 2 (n = 10): basado en el *stent* metálico Architect®, recubierto de un polímero permanente de la familia de los poliacrilatos y

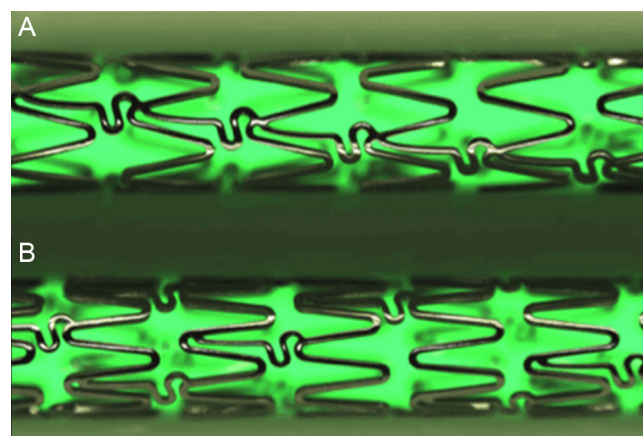


Figura 1. Diseño del *stent* convencional de cromo-cobalto Architect®, la plataforma metálica del control, *stent* liberador de fármaco 1 y *stent* liberador de fármaco 2 (A); la nueva plataforma metálica, estructural del *stent* liberador de fármaco 3, tiene mayor número de coronas por segmento y conectores no concatenados para permitir una liberación del fármaco más uniforme (B). Imágenes de alta definición obtenidas con el sistema QSix® (Barcelona, España).

cargado con 1,4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus (sin barrera polimérica externa).

4. SLF 3 (n = 12): es el nuevo SLF de iVascular llamado Angiolite[®]. La plataforma está compuesta de la aleación de cromo-cobalto L605 con grosor de *strut* de 85 μm . La estructura del *stent* está formada por ocho coronas unidas por tres filas de conectores no concatenados que forman una estructura sinusoidal discontinua (figura 1B). Este diseño supone un leve incremento de la razón metal/arteria y permite una mejor distribución del fármaco en la pared arterial. El polímero es permanente y de la familia de los poliácridatos. El fármaco liberado es sirolimus a dosis de 1,4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, y más del 80% del fármaco se libera en 60 días.
5. SLF 4 (n = 5): SLF comercial de primera generación Cypher[®] (J&J Cordis; Miami Lakes, Florida, Estados Unidos) con un grosor de *strut* de 140 μm y cargado con 1,4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus con una matriz permanente de copolímero.
6. SLF 5 (n = 5): SLF de segunda generación Xience[®] (Abbott Vascular; Santa Clara, California, Estados Unidos). Este *stent* libera everolimus a dosis de 1 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ a través de su copolímero fluorado permanente. La plataforma metálica es el *stent* Multi-Link, que está formado por aleación de cromo-cobalto con un grosor de *strut* de 81 μm .

Todo el material fue proporcionado por iVascular, incluidos los SLF 1, 2 y 3, que aún no están disponibles en el mercado.

El cálculo del tamaño muestral y el número de *stents* incluidos en el estudio se ha realizado según lo recomendado en los documentos de consenso de análisis preclínico de *stents*²⁰.

Análisis angiográfico

Tras completar en cada arteria los procedimientos mencionados, se repitió la coronariografía (previa administración intracoronaria de nitroglicerina) para determinar el diámetro luminal mínimo (DLM) dentro del *stent*. A los 28 días, se realizó una nueva coronariografía de control para evaluar el DLM en el seguimiento. Tanto los DLM tras el procedimiento y en el seguimiento como los diámetros de referencia de las arterias (diámetro medio de los segmentos arteriales localizados en los 5 mm proximales y distales del *stent*) se calcularon con el *software* de análisis cuantitativo coronario automatizado Medis QCA-CMS, versión 6.1. Se calcularon los siguientes parámetros de restenosis angiográfica:

- Pérdida tardía (*late loss*) = DLM inicial – DLM en seguimiento.
- Porcentaje de restenosis angiográfica = $[1 - (\text{DLM inicial} / \text{diámetro de referencia})] \times 100$.

Se consideró un criterio de exclusión del análisis angiográfico la presencia de ramas superpuestas que impidiesen una correcta medición del diámetro del vaso.

Análisis histológico

Tras completar el seguimiento angiográfico, los animales fueron sacrificados y se les realizó un análisis histológico completo. Se explantaron los corazones y se fijaron las arterias coronarias mediante presión-perfusión, inicialmente con salino tamponado con fosfato y posteriormente mediante paraformaldehído al 4%. Se disecaron los segmentos tratados conservando los 5 mm distales y proximales a la zona tratada. Las muestras se incluyeron en resinas plásticas para obtener secciones circunferenciales representativas de las zonas proximal, media y distal y calcular los valores medios de cada segmento estudiado. Tras desplastificar las secciones, se

realizaron sistemáticamente tinciones con hematoxilina-eosina y elastina de Van Gieson.

Se analizaron las arterias histomorfológicamente con microscopio digital Olympus PROVIS AX70W (Tokyo, Japan) con cámara digital Nikon DXM 1200W incorporada y el *software* ImageJ-NIH Image 1.4 (National Institutes of Health, Estados Unidos). Se utilizó la planimetría para determinar el área luminal y el área de membrana elástica interna y calcular así las variables de restenosis definidas mediante histología:

- Área neointimal = área de elástica interna – área luminal.
- Porcentaje de estenosis por histología = $[1 - (\text{área luminal} / \text{área de elástica interna})] \times 100$.

El análisis histológico de seguridad se basa en el análisis semicuantitativo de cuatro parámetros: el grado de daño vascular (*injury score*), definido por Schwartz et al²³; la intensidad de la inflamación, definida por Kornowski et al²⁴; el depósito persistente de fibrina según Suzuki et al²⁵, y el grado de reendotelización calculado como el porcentaje aproximado de superficie luminal cubierta por células endoteliales. En función de la cantidad de superficie cubierta por células endoteliales 28 días tras el implante, se define un parámetro adicional: la endotelización completa, como al menos el 95% de la superficie luminal cubierta por dichas células²⁶. Los *stents* con *injury score* > 2 se excluyeron del análisis final, dado que pueden mostrar respuestas inespecíficas en la histología de la pared arterial.

Método estadístico

Los valores se presentan como proporciones y como media \pm desviación estándar dependiendo del tipo de variable. Las variables semicuantitativas, como las puntuaciones de seguridad en el análisis histopatológico, se describen como media \pm desviación estándar (que es la forma más común de presentarlo en las publicaciones previas) y como porcentajes (lo recomendado por los documentos de consenso de análisis preclínico de *stents*^{20,27}).

Se analizaron las diferencias entre la media de los grupos mediante el test de la t de Student y el análisis de la varianza. Para las comparaciones múltiples, se realizaron análisis *post-hoc* mediante el método de Dunnett para la comparación con un control y mediante el de Tukey para la comparación con todos los grupos. Las variables semicuantitativas se analizaron mediante el test de la χ^2 o el método exacto de Fisher. Para evaluar la posible influencia de diferentes variables (razón *stent*/arteria, arteria tratada, tipo de *stent* e *injury score*) en los resultados finales de estenosis angiográfica e histológica, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal multivariable en el que se incluyó, además de las citadas variables, el tipo de *stent* (SC o SLF). Las variables se introdujeron en el modelo en bloque con una p de entrada de 0,05 y una p de salida de 0,1. Para los análisis se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

En este estudio, finalmente se implantaron en las arterias coronarias porcinas 59 de los 60 *stents* planeados (un SC no se pudo implantar correctamente en la coronaria derecha) y sobredistendidos a una tasa media *stent*/arteria de $1,34 \pm 0,15$, sin diferencias significativas entre los *stents*. Los animales completaron el seguimiento planeado y los controles angiográficos y los análisis histológicos se realizaron sin incidencias. Todos los segmentos tratados estaban permeables en el análisis angiográfico final. Dos SC, 2 SLF-1 y 1 SLF-3 se excluyeron del análisis final por presentar un

Tabla 1
Resultados angiográficos a 28 días

| | SC (n=8) | SLF-1 (n=14) | SLF-2 (n=10) | SLF-3 (n=11) | Xience® (n=5) | Cypher® (n=5) | p (SC frente a SLF) |
|----------------|---------------|---------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------------|
| Late loss (mm) | 1,54 ± 0,40 | 1,03 ± 0,55 | 1,26 ± 0,30 | 0,87 ± 0,30 | 1,52 ± 0,37 | 1,19 ± 0,30 | 0,006 |
| Estenosis (%) | 37,11 ± 12,73 | 15,89 ± 10,59 | 22,89 ± 7,92 | 9,73 ± 6,09 | 28,96 ± 9,86 | 22,74 ± 14,14 | < 0,001 |

SC: *stent* convencional; SLF: *stent* liberador de fármaco.
Los datos se presentan como media ± desviación estándar.

Tabla 2
Resultados histológicos a 28 días

| | SC (n=8) | SLF-1 (n=15) | SLF-2 (n=10) | SLF-3 (n=12) | Xience® (n=5) | Cypher® (n=5) | p (SC frente a SLF) |
|------------------------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------------|
| Área neointimal (mm ²) | 3,70 ± 0,91 | 2,20 ± 0,74 | 2,43 ± 0,65 | 1,84 ± 0,60 | 1,93 ± 0,84 | 3,35 ± 0,88 | < 0,001 |
| Área de estenosis (%) | 63,55 ± 15,39 | 36,31 ± 14,17 | 41,02 ± 10,83 | 35,17 ± 11,04 | 29,60 ± 9,58 | 46,92 ± 8,19 | < 0,001 |
| Injury score | 0,96 ± 0,44 | 0,89 ± 0,55 | 0,87 ± 0,42 | 0,56 ± 0,27 | 0,87 ± 0,47 | 0,81 ± 0,48 | 0,318 |
| Injury score ≥ 1 (%) | 38 | 40 | 30 | 0 | 40 | 40 | 0,249 |
| Puntuación de inflamación | 0,99 ± 0,63 | 0,86 ± 0,44 | 0,89 ± 0,46 | 0,29 ± 0,12 | 0,80 ± 0,38 | 1,16 ± 0,46 | 0,198 |
| Puntuación de inflamación ≥ 1 (%) | 25 | 40 | 40 | 0 | 20 | 60 | 0,111 |
| Puntuación de fibrina | 0,33 ± 0,40 | 1,36 ± 0,51 | 1,25 ± 0,54 | 1,41 ± 0,47 | 1,40 ± 0,43 | 1,67 ± 0,53 | < 0,001 |
| Puntuación de fibrina ≥ 1 (%) | 25 | 40 | 40 | 0 | 20 | 60 | 0,249 |
| Superficie endotelizada (%) | 99,63 ± 1,10 | 94,22 ± 3,18 | 96,0 ± 1,10 | 96,75 ± 1,26 | 94,40 ± 2,60 | 95,40 ± 3,65 | < 0,001 |
| Endotelización completa (> 95%), % | 100 | 47 | 50 | 83 | 20 | 40 | 0,005 |

SC: *stent* convencional; SLF: *stent* liberador de fármaco.
Salvo otra indicación, los datos se presentan como media ± desviación estándar.

injury score > 2. El análisis angiográfico de 2 *stents* no se pudo realizar debido a la presencia de ramas superpuestas en el segmento del *stent* en un caso (SLF-1 en arteria circunfleja) y por una inadecuada opacificación del *stent* en el otro (SLF-3 en coronaria derecha).

Análisis de eficacia antirrestenótica

Los resultados en cuanto a las propiedades antirrestenóticas se muestran en las tablas 1 y 2. Se observa en general una reducción significativa de la pérdida tardía (*late loss*) para todos los SLF en comparación con el SC de control ($p = 0,006$). SLF-1 y SLF-3 mostraron valores de esta variable menores que el SC ($p = 0,025$ y $p = 0,004$ respectivamente). Asimismo, SLF-3 mostró valores de esta variable menores que el *stent* Xience®, hecho de significación estadística límite ($p = 0,049$). La restenosis angiográfica también fue menor en el grupo de SLF que en el del SC de control ($p < 0,001$); sin embargo, este hecho solo se cumple con los nuevos prototipos testados ($p < 0,001$ para el SLF-1; $p = 0,047$ para el SLF-2; $p < 0,001$ para el SLF-3). El SLF-3 mostró menor restenosis que el Xience® ($p = 0,011$) (figura 2).

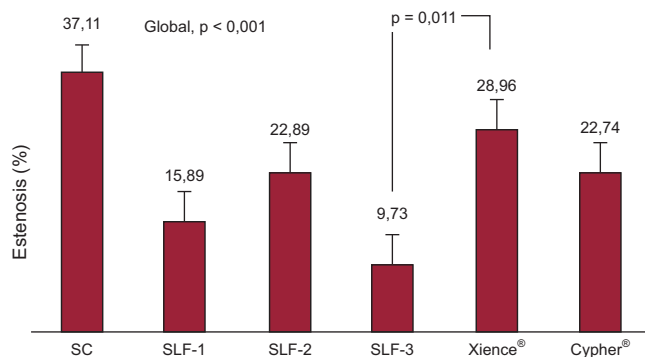


Figura 2. Restenosis angiográfica: significativamente mayor en *stent* convencional que en *stent* liberador de fármaco. SC: *stent* convencional; SLF: *stent* liberador de fármaco.

En cuanto al análisis histológico, los nuevos SLF de sirolimus presentaron menor área neointimal y menor restenosis histológica que el SC ($p < 0,001$ para ambas variables). Los nuevos dispositivos mostraron significativamente menor área neointimal que el SC y el Cypher®, pero no se evidenciaron diferencias con respecto al Xience®. Asimismo, se objetivó menor restenosis histológica en comparación con SC, pero no con Xience® o Cypher®. La figura 3 muestra la comparación entre los efectos de los diferentes *stents*, tanto en la angiografía como en la histología.

Se realizó un análisis multivariable para evaluar la influencia de diferentes variables en los valores de restenosis histológica. Se encontró una asociación independiente con mayor grado de restenosis a mayor *injury score* ($B = 13,38$; intervalo de confianza del 95%, 5,68-21,08; $p < 0,001$) y menores valores en caso de SLF frente a control ($B = -26,73$; intervalo de confianza del 95%, -35,95 a 17,51; $p < 0,001$).

Análisis de seguridad

Las variables de seguridad se muestran en la tabla 2. En general, los SC mostraron mayor grado de endotelización a los 28 días que los SLF analizados ($p < 0,001$). Esta diferencia no alcanzó la significación estadística en el caso del SLF-3 ($p = 0,084$). No se observaron diferencias entre los SLF analizados. En cuanto al *injury score*, no se objetivaron diferencias significativas entre los dispositivos. El grado de inflamación fue menor en el SLF-3, incluso con valores menores que el SC ($p = 0,010$) (figura 4). Finalmente, se encontró menor depósito de fibrina en el grupo de SC que en los SLF testados ($p < 0,001$).

DISCUSIÓN

Este estudio pretende comprobar la seguridad y eficacia de unos nuevos modelos de *stent* liberadores de sirolimus y con polímero permanente, en comparación con SC y con dos SLF actualmente comercializados. Se ha demostrado que los nuevos dispositivos, en

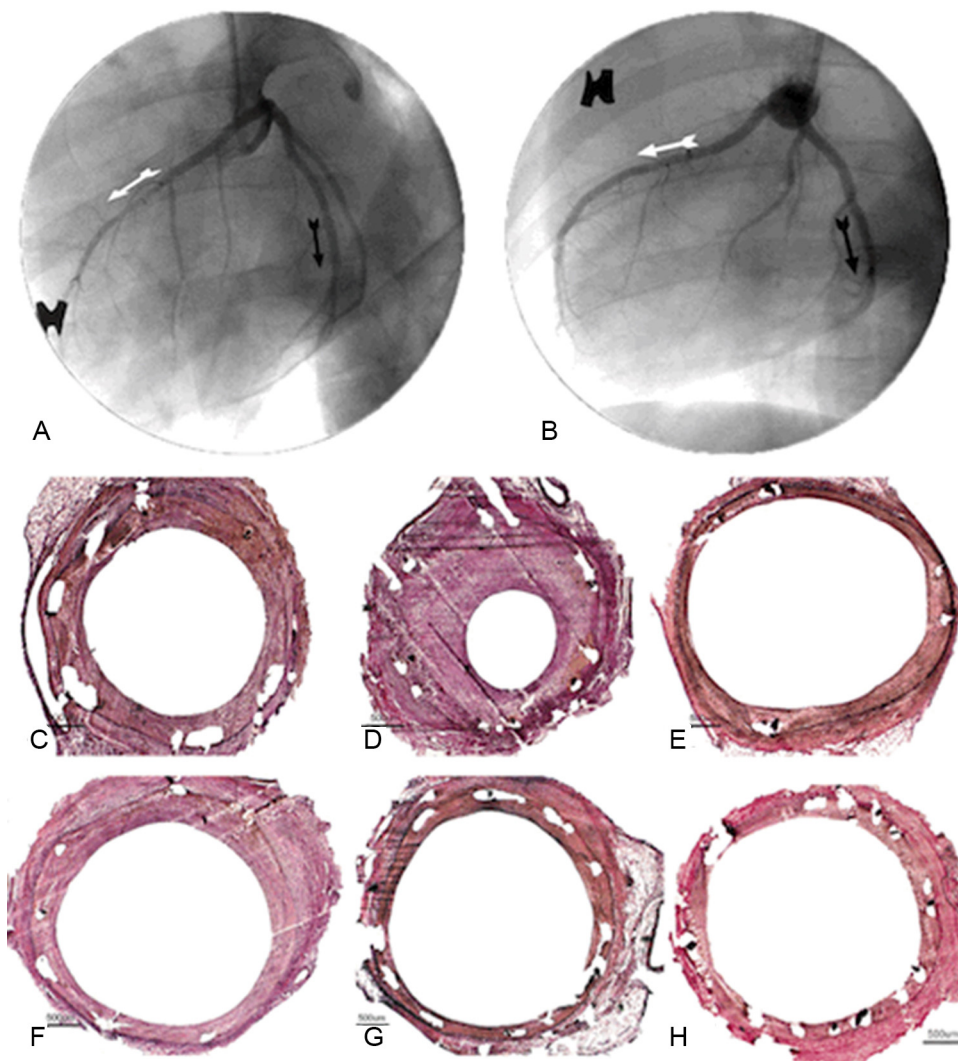


Figura 3. Eficacia antiproliferativa: comparación angiográfica e histológica a los 28 días. Resultados angiográficos del *stent* convencional de control (A: descendente anterior, flecha blanca), *stent* liberador de fármaco 3 (A: circunfleja, flecha negra), *stent* liberador de fármaco 2 (B: descendente anterior, flecha blanca) y *stent* liberador de fármaco 1 (B: circunfleja, flecha negra). Resultados histológicos del *stent* Cypher® (C), *stent* convencional (D), Xience® (E), *stent* liberador de fármaco 1 (F), *stent* liberador de fármaco 2 (G) y *stent* liberador de fármaco 3 (H).

el modelo preclínico, disminuyen el grado de restenosis (fundamentalmente SLF-1 y SLF-3) en comparación con el SC control y con similares parámetros de seguridad que los SLF actualmente comercializados.

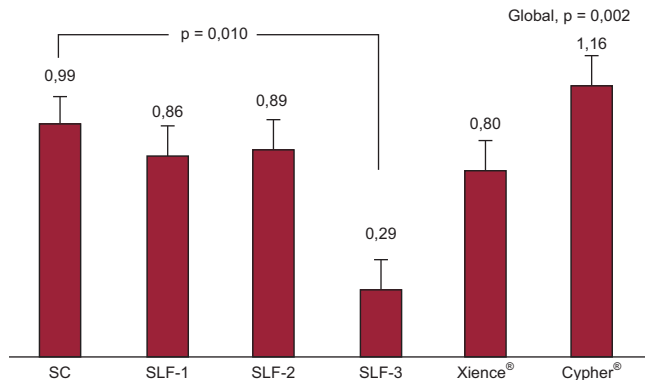


Figura 4. Puntuación de inflamación: es interesante el menor valor en el *stent* liberador de fármaco 3. SC: *stent* convencional; SLF: *stent* liberador de fármaco.

El análisis preclínico en el modelo animal es una parte fundamental de los procesos de aprobación y un determinante esencial para comprobar la seguridad y la eficacia de nuevos dispositivos coronarios. Asimismo, es el método más eficaz para evaluar la respuesta de la pared vascular en relación con los nuevos materiales terapéuticos.

Los nuevos SLF mostraron en general mayor eficacia en la prevención de la restenosis que el SC de control. Este hallazgo era esperable, puesto que estudios previos han demostrado que distintos modelos de *stents* liberadores de sirolimus disminuyen significativamente el *late loss* y la revascularización del vaso tratado en comparación con los SC^{1,2,25,28-30}. Además, es de destacar que en el presente estudio el SLF-3 parece ser el de mayor eficacia en general, incluso cuando se compara los SLF comercializados. Este hecho es de relevancia, puesto que el *stent* Xience® ha sido el dispositivo con mejor balance de eficacia/seguridad en metanálisis recientes^{31,32}. Aunque pueden existir varios factores que expliquen este hallazgo, se conoce por publicaciones previas que el diseño y el recubrimiento del *stent* pueden afectar significativamente a la hiperplasia neointimal y el depósito trombótico³³⁻³⁶. Es probable que el nuevo diseño de esta plataforma, con una distribución mejorada del fármaco en la pared

arterial, pueda ser el motivo de estos efectos. A pesar de estos resultados prometedores, se debe asumir que el modelo coronario porcino es limitado a la hora de valorar la respuesta de la pared arterial a los *stents* y que no existe un modelo animal que reproduzca con total exactitud las características de la enfermedad vascular en humanos^{20,27}. Es por ello que es necesario ser cautos a la hora de interpretar este hallazgo positivo. Sin embargo, estudios experimentales indican que existen importantes similitudes entre la inflamación, el daño vascular y el crecimiento neointimal entre estos modelos y las arterias coronarias nativas humanas, aunque el daño vascular causado en el modelo animal difiere de aquel que se produce en arterias humanas ateroscleróticas^{37,38}. El daño vascular representa el evento fundamental que puede llevar a encontrar diferencias entre los *stents* estudiados en el modelo porcino. El presente grupo ha publicado previamente que un mayor grado de daño vascular producido por la sobredilatación de los *stents* implantados representa un potente estímulo para la proliferación neointimal. Por lo tanto, cuanto mayor sea el daño vascular, mayor será la eficacia de los SLF en prevenir la respuesta neointimal²². Este hecho está presente en este estudio, en el que la razón *stent*/arteria es superior a lo recomendado²⁰, lo que permite observar las diferencias entre los dispositivos. Además, es relevante que esta sobredilatación no se asociara con un excesivo *injury score*, lo cual podría alterar los resultados del estudio al inducir respuestas vasculares inespecíficas. Esto se confirmaría al no encontrar asociación significativa entre esta variable y el grado de estenosis angiográfica o histológica. En el presente análisis multivariable, el uso de SLF se asoció de forma independiente con menor grado de estenosis, lo cual confirma que el efecto es real y no está relacionado con el daño producido en la arteria.

En cuanto a los datos de seguridad, el grado de endotelización es peor en cualquier SLF que en el SC control, lo que se explica por el efecto del sirolimus, un potente inhibidor de la proliferación endotelial mediante la desactivación de la vía de la cinasa p70 S6, un paso fundamental para la progresión del ciclo celular en respuesta a factores de crecimiento^{28,39,40}. Es interesante señalar que el SLF-3 no mostró diferencias significativas con respecto al SC, lo cual confirma la seguridad de este dispositivo testado. Asimismo, el depósito de fibrina alrededor de los *stents* fue mayor en el grupo de SLF, lo cual indica el efecto del fármaco⁴¹. Es interesante señalar que todos los *stents* analizados presentaban bajos valores de *injury score*, con una media < 1 a pesar de una tasa *stent*/arteria $\geq 1,3$. Es probable que este hallazgo refleje el alto grado de biocompatibilidad del material testado. Finalmente, merece la pena señalar que el SLF-3 presentaba menor respuesta inflamatoria que el SC control. A pesar de que existen varios factores que podrían explicar este hallazgo, es posible que este nuevo diseño, con su patrón de liberación de sirolimus mejorado, pueda estar asociado a un mayor efecto antiinflamatorio del fármaco⁴² que podría equilibrar el efecto proinflamatorio del polímero permanente⁴³.

Limitaciones

Este estudio, como todos los modelos preclínicos, tiene limitaciones inherentes, puesto que ningún modelo animal puede reproducir con total fidelidad las complejas características de la enfermedad coronaria humana. Los modelos de animales enfermos pueden mostrar algunas de ellas, pero su interpretación exacta no está completamente aclarada. Aunque la respuesta proliferativa obtenida permite evaluar la actividad del fármaco y el comportamiento del *stent*, se desconoce si este efecto sería el mismo en las arterias con gran contenido aterosclerótico, en las que la fragmentación de la lámina elástica interna aparece espontáneamente como parte del proceso inflamatorio general, especialmente en las placas vulnerables, en el que otros mediadores participan en

el proceso de reparación vascular. Además, los pacientes con aterosclerosis presentan otros factores moleculares y genéticos que pueden interferir directamente en el proceso. A pesar de ello, el modelo de arteria coronaria porcina sigue siendo el recomendado por los consensos para evaluación de dispositivos. La evaluación histológica utilizando variables semicuantitativas también limita la exactitud; sin embargo, se han seguido los estándares de análisis postulados por los consensos de expertos^{20,27}. El tamaño muestral se seleccionó siguiendo los estándares marcados por los documentos de consenso de estudios preclínicos de *stents* coronarios. En este sentido, si bien la potencia para detectar diferencias con los SC es adecuada, la potencia para detectar diferencias entre SLF es menor, por lo que estas comparaciones deben ser tomadas con cautela.

CONCLUSIONES

En el modelo experimental de arteria coronaria porcina sana con implante de *stents* sobredimensionados, los nuevos *stents* de sirolimus testados han mostrado una reducción significativa de la restenosis en comparación con el SC de control. Además, no se han encontrado diferencias relevantes con los SLF de primera y segunda generación disponibles actualmente en el mercado.

FINANCIACIÓN

Este estudio se ha desarrollado con el apoyo del CDTI (Centro para el Desarrollo Tecnológico Industrial) del Ministerio de Economía y Competitividad (IDI-20111025).

CONFLICTO DE INTERESES

A. Pérez de Prado y F. Fernández-Vázquez son consultores y reciben apoyo para diversos proyectos de investigación por parte de LVD Biotech/iVascular. M. Molina y L. Duocastella son empleados de LVD Biotech/iVascular. L. Duocastella es el CEO (*Chief Executive Officer*) y posee acciones de LVD Biotech/iVascular.

BIBLIOGRAFÍA

- Spaulding C, Daemen J, Boersma E, Cutlip DE, Serruys PW. A pooled analysis of data comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med*. 2007;356:989–97.
- Kastrati A, Mehilli J, Pache J, Kaiser C, Valgimigli M, Kelbaek H, et al. Analysis of 14 trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med*. 2007;356:1030–9.
- Stone GW, Moses JW, Ellis SG, Schofer J, Dawkins KD, Morice MC, et al. Safety and efficacy of sirolimus- and paclitaxel-eluting coronary stents. *N Engl J Med*. 2007;356:998–1008.
- Sarno G, Lagerqvist B, Frobert O, Nilsson J, Olivecrona G, Omerovic E, et al. Lower risk of stent thrombosis and restenosis with unrestricted use of 'new-generation' drug-eluting stents: a report from the nationwide Swedish Coronary Angiography and Angioplasty Registry (SCAAR). *Eur Heart J*. 2012;33:606–13.
- Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, Abrecht L, Vaina S, Morger C, et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet*. 2007;369:667–78.
- Stettler C, Wandel S, Allemann S, Kastrati A, Morice MC, Schömig A, et al. Outcomes associated with drug-eluting and bare-metal stents: a collaborative network meta-analysis. *Lancet*. 2007;370:937–48.
- Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, et al. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation*. 2007;115:2435–41.
- Nakazawa G, Finn AV, Vorpahl M, Ladich ER, Kolodgie FD, Virmani R. Coronary responses and differential mechanisms of late stent thrombosis attributed to first-generation sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:390–8.
- Nakazawa G, Otsuka F, Nakano M, Vorpahl M, Yazdani SK, Ladich E, et al. The pathology of neoatherosclerosis in human coronary implants bare-metal and drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1314–22.

10. Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kolodgie FD, Ladich E, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:193–202.
11. Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, et al. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious? *Circulation*. 2004;109:701–5.
12. Abizaid A, Costa Jr JR. New drug-eluting stents: an overview on biodegradable and polymer-free next-generation stent systems. *Circ Cardiovasc Interv*. 2010;3:384–93.
13. 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;373:897–910.
14. 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;58:1578–88.
15. Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, et al. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation*. 1999;99:44–52.
16. Nakazawa G, Ladich E, Finn AV, Virmani R. Pathophysiology of vascular healing and stent mediated arterial injury. *EuroIntervention*. 2008;4 Suppl C:7–10.
17. Schwartz RS, Chronos NA, Virmani R. Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:1373–85.
18. Perez de Prado A, Perez Martinez C, Cuellas Ramon C, Gonzalo Orden JM, Altonaga JR, Iglesias MJ, et al. Endothelialization of nonapposed stent struts located over the origin of a side branch: results with different carbofilm-coated stents. *J Interv Cardiol*. 2009;22:222–7.
19. Joner M, Byrne RA, Lapointe JM, Radke PW, Bayer G, Steigerwald K, et al. Comparative assessment of drug-eluting balloons in an advanced porcine model of coronary restenosis. *Thromb Haemost*. 2011;105:864–72.
20. Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, Carter A, Granada JF, Kaluza GL, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: updated consensus recommendations for preclinical evaluation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2008;1:143–53.
21. Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas-Ramón C, Gonzalo-Orden JM, Regueiro-Purriños M, Martínez B, et al. Time course of reendothelialization of stents in a normal coronary swine model: characterization and quantification. *Vet Pathol*. 2011;48:1109–17.
22. Diego A, Pérez de Prado A, Cuellas C, Pérez-Martínez C, Gonzalo-Orden M, Altonaga JR, et al. La reestenosis en el *stent* depende del daño vascular inducido ¿Son válidos los modelos experimentales actuales de análisis de los *stents* farmacológicos? *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:745–51.
23. 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.
24. 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.
25. 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;104:1188–93.
26. Perez de Prado A, Perez-Martinez C, Cuellas C, Gonzalo-Orden JM, Diego A, Regueiro M, et al. Preclinical evaluation of coronary stents: focus on safety issues. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013;11:74–99.
27. 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;106:1867–73.
28. Joner M, Nakazawa G, Finn AV, Quee SC, Coleman L, Acampado E, et al. Endothelial cell recovery between comparator polymer-based drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:333–42.
29. Spaulding C, Henry P, Teiger E, Beatt K, Bramucci E, Carrié D, et al. Sirolimus-eluting versus uncoated stents in acute myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2006;355:1093–104.
30. Spaulding C, Teiger E, Commeau P, Varenne O, Bramucci E, Slama M, et al. Four-year follow-up of TYPHOON (trial to assess the use of the CYPHer sirolimus-eluting coronary stent in acute myocardial infarction treated with Balloon angioplasty). *JACC Cardiovasc Interv*. 2011;4:14–23.
31. Palmerini T, Biondi-Zoccai G, Della Riva D, Mariani A, Sabaté M, Valgimigli M, et al. Clinical outcomes with drug-eluting and bare-metal stents in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: evidence from a comprehensive network meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2013;62:496–504.
32. Palmerini T, Biondi-Zoccai G, Della Riva D, Mariani A, Sabaté M, Smits PC, et al. Clinical outcomes with bioabsorbable polymer- versus durable polymer-based drug-eluting and bare-metal stents: evidence from a comprehensive network meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2014;63:299–307.
33. 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.
34. Rogers C, Edelman ER. Endovascular stent design dictates experimental restenosis and thrombosis. *Circulation*. 1995;91:2995–3001.
35. Kolandaivelu K, Swaminathan R, Gibson WJ, Kolachalama VB, Nguyen-Ehrenreich KL, Giddings VL, et al. Stent thrombogenicity early in high-risk interventional settings is driven by stent design and deployment and protected by polymer-drug coatings. *Circulation*. 2011;123:1400–9.
36. Balakrishnan B, Tzafriri AR, Seifert P, Groothuis A, Rogers C, Edelman ER, et al. Strut position, blood flow, and drug deposition: implications for single and overlapping drug-eluting stents. *Circulation*. 2005;111:2958–65.
37. Schwartz RS, Henry TD. Pathophysiology of coronary artery restenosis. *Rev Cardiovasc Med*. 2002;3 Suppl 5:4–9.
38. 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.
39. Steigerwald K, Ballke S, Quee SC, Byrne RA, Vorpahl M, Vogeser M, et al. Vascular healing in drug-eluting stents: differential drug-associated response of limus-eluting stents in a preclinical model of stent implantation. *EuroIntervention*. 2012;8:752–9.
40. Finn AV, Nakazawa G, Joner M, Kolodgie FD, Mont EK, Gold HK, et al. Vascular responses to drug eluting stents: importance of delayed healing. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:1500–10.
41. Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas Ramón C, Regueiro Purriños M, Diego Nieto A, Gonzalo-Orden JM, et al. Análisis de la eficacia y la seguridad de distintos balones liberadores de paclitaxel en un modelo animal. *Rev Esp Cardiol*. 2014;67:456–62.
42. Sehgal SN. Rapamune (sirolimus, rapamycin): an overview and mechanism of action. *Ther Drug Monit*. 1995;17:660–5.
43. Yazdani SK, Sheehy A, Nakano M, Nakazawa G, Vorpahl M, Otsuka F, et al. Preclinical evaluation of second-generation everolimus- and zotarolimus-eluting coronary stents. *J Invasive Cardiol*. 2013;25:383–90.