

CYRO CASTRO JÚNIOR

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA REAÇÃO INTIMAL SECUNDÁRIA AO IMPLANTE
DE *STENT* EM ARTÉRIAS ILÍACAS SUBMETIDAS À ANGIOPLASTIA:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS.**

Dissertação de Mestrado em Cirurgia
Para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Curso de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia
Área de Concentração – Cirurgia Cardiovascular

Orientador: Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira
Co-Orientador: Prof. Dr. Antônio de Pádua F. da Silva Filho

Porto Alegre

2003

CYRO CASTRO JÚNIOR

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA REAÇÃO INTIMAL SECUNDÁRIA AO IMPLANTE
DE *STENT* EM ARTÉRIAS ILÍACAS SUBMETIDAS À ANGIOPLASTIA:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS.**

Dissertação de Mestrado em Cirurgia
Para obtenção do Título de Mestre em Cirurgia
Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Curso de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia
Área de Concentração – Cirurgia Cardiovascular

Aprovação em 05 de novembro de 2003.

Prof. Dr. Armando de Carvalho Lobato _____

Prof. Dr. Luis Francisco Machado da Costa _____

Dr. Gilberto Gonçalves de Souza _____

Prof. Dr. Orlando Carlos Belmonte Wender (supl.) _____

DEDICATÓRIA

Minha amada esposa, Flávia Ciane Assmann Castro, companheira inseparável, juntos criamos o que mais importante temos, nosso filho Vítor Assmann Castro. Aos dois dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Ao Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira, pela orientação, confiança, segurança e exemplo profissional dispensado na realização deste trabalho.

Ao Dr. Márcio Bastiani Pasa, pela amizade, estímulo constante e incansável auxílio, viabilizando este estudo.

Aos meus pais Cyro Castro e Hedy Rosa Castro, fontes de inspiração, pelo apoio sempre decisivo em todos os projetos e conquistas da minha vida.

A toda a minha família, por confiar em mim e conceder suporte sempre que necessário.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Antônio de Pádua F. da Silva Filho, co-orientador desta dissertação e Diretor da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, pela complementação científica no campo veterinário.

Ao Hospital de Clínicas Veterinárias da UFRGS, na pessoa de sua diretora, Dra Heloísa Azevedo Scherer e demais funcionários pela receptividade e liberdade recebida para a utilização de materiais e área física.

Ao Dr. Adriano Gonçalves de Melos, médico veterinário, pela disposição, solidariedade e excelência na condução anestésica deste experimento.

Ao Eng. Luciano da Silva Duarte, pela confecção dos *stents* com competência e presteza sempre que solicitado.

À Cristália Produtos Químicos e Farmacêuticos e seus representantes em Porto Alegre, pela doação dos produtos anestésicos, sem conflito de interesses.

Ao Hospital de Aeronáutica de Canoas (HACO), Laboratório de Análises Clínicas e seus funcionários pelo auxílio nas dosagens hematimétricas e sorológicas.

À Dra. Fabiane Spagnol, farmacêutica-bioquímica, pela amizade, disponibilidade e competente apoio técnico.

Ao Sr. Jorge Alberto Lopes, técnico em patologia, pela excelente preparação dos cortes histológicos.

Aos colegas Dr. Luciano Haas, Dr. Marco Aurélio Grüdtner, Dr. Marcelo Melzer Teruchkin, Dr. Sharbel Mahfuz Boustani pelo apoio a este trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa e Pós-Graduação do HCPA, na pessoa da estatística Dra. Vânia Naomi Hirakata, pela acessoria na análise dos dados.

À UNED – Sapucaia do Sul (CEFET-RS) e seus funcionários pelo incentivo ao crescimento científico e suporte disponibilizado.

A todos que, de alguma forma, colaboraram para a realização desta dissertação.

“Em toda ação humana, quase por necessidade, ocorrem erros; porém onde surgem mais facilmente e são mais numerosos e com diferentes formas, é na impressão dos livros; e não posso imaginar outra coisa onde possa haver mais. E parece-me que a empresa de corrigi-los se possa comparar com a luta de Hércules com a Hydra das cinquenta cabeças: por um lado, assim como quando com seu valor e força, cortava uma, nasciam duas, da mesma forma, no entanto com conhecimento e diligência se corrige um erro, quase sempre surgem não dois mas três ou quatro, com frequência e maior importância do que tinha o primeiro.”

Extrata do prefácio do tipógrafo Cavallo da obra de Achille Fazio Alessandro, impressa em Veneza em 1563.

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA REAÇÃO INTIMAL SECUNDÁRIA AO IMPLANTE
DE *STENT* EM ARTÉRIAS ILÍACAS SUBMETIDAS À ANGIOPLASTIA:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS.**

RESUMO

OBJETIVO: analisar, por meio da morfometria digital, o espessamento intimal presente na artéria ilíaca de suínos, submetidos à angioplastia isoladamente e à angioplastia seguida do implante de *stent*.

MATERIAIS E MÉTODOS: em dez suínos saudáveis, foi realizada a angioplastia de ambas as artérias ilíacas comuns (AIC) seguida do implante de um “Z” *stent* auto-expansível na AIC esquerda. Após quatro semanas, os animais foram sacrificados para a retirada de amostras de tecido arterial e preparo das lâminas histológicas de três grupos de peças de cada suíno divididas do seguinte modo: grupo 1, envolvendo o segmento arterial proximal do *stent*; grupo 2, envolvendo o segmento distal do *stent*; grupo 3, área da angioplastia da AIC direita. As imagens das lâminas foram digitalizadas e analisadas por programa de morfometria com cálculo da área luminal, área da camada íntima e área da camada média dos cortes histológicos. A análise estatística foi realizada através de média e desvio padrão das áreas em cada grupo, utilizando ANOVA, com teste *Post-Hoc* de *Tukey* e *LSD*. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS: na análise das médias das áreas obtidas, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa quanto à camada íntima dos grupos 1 (5,41 mm²) e 2 (5,25 mm²), quando comparados ao grupo 3 (0,65 mm²), em relação à camada média dos grupos 1 (3,51 mm²) e 2 (3,70 mm²), quando comparados ao grupo 3 (5,59 mm²) e não se observou diferença significativa nas médias das áreas luminiais dos três grupos (grupo 1: 6,63 mm²; grupo 2: 5,25 mm²; grupo 3: 5,78 mm²).

CONCLUSÃO: a angioplastia da AIC do suíno, seguida do implante do *stent*, gerou um espessamento intimal maior do que aquele produzido apenas pela angioplastia; porém, a área da camada média apresentou-se diminuída nos grupos “angioplastia + *stent*”; a luz arterial não apresentou diferença entre estes grupos.

PALAVRAS-CHAVE: angioplastia, *stents*, reestenose, doença vascular periférica, estudo experimental.

**MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE INTIMAL REACTION AFTER
IMPLANTATION OF STENTS IN ILIAC ARTERIES SUBMITTED TO
ANGIOPLASTY: AN EXPERIMENTAL STUDY IN PIGS.**

ABSTRACT

PURPOSE: to compare through digital morphometry, the intimal thickening of the iliac arteries in pigs, submitted to isolated angioplasty and angioplasty followed by stent implantation.

MATERIAL AND METHODS: the angioplasty was performed in 10 healthy pigs in both common iliac arteries (CIA), followed by a self-expanding stainless steel “Z” stent implantation in the left CIA. After four weeks, the animals were sacrificed and the aorto-iliac segment was dissected free of surrounding structures. Histologic slices were divided in three groups: left CIA in the area of the proximal implantation site of the stent (group 1), left CIA including the distal implantation site of the stent (group 2) and the region of angioplasty in the right CIA (group 3). The histological slices were digitalized to be analysed by morphometry with calculation of the luminal, intimal and media layers areas. Descriptive statistics analysis was performed through average and standard deviation of areas on each group, using ANOVA, with Tukey and LSD Post-Hoc tests. The value of $p \leq 0.05$ were considered significant.

RESULTS: a significant statistic difference was observed when the median area of intimal layer of the groups 1 (5.41 mm²) and 2 (5.25 mm²) were compared with group 3 (0.65 mm²) and in the media layer area of the groups 1 (3.51 mm²) and 2 (3.70 mm²) when compared with group 3 (5.59 mm²). No difference was observed in luminal areas among the three groups (group 1: 6.63 mm²; group 2: 5.25 mm²; group 3: 5.78 mm²).

CONCLUSION: angioplasty followed by stent insertion produces an intimal thickening bigger than that observed after simple angioplasty; however, the area of the media layer is smaller in the “angioplasty plus stent” groups; there is no significant change in the luminal area among the three groups.

KEY-WORDS: angioplasty, stents, restenosis, peripheral vascular disease, experimental.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------------------|----|
| INTRODUÇÃO | 17 |
| HISTÓRICO | 20 |
| PAREDE VASCULAR | 24 |
| ENDOTÉLIO | 25 |
| ARTERIOSCLEROSE | 28 |
| ANGIOPLASTIA TRANSLUMINAL PERCUTÂNEA | 33 |
| <i>STENT</i> | 37 |
| REESTENOSE | 45 |
| OBJETIVO | 53 |
| HIPÓTESE | 54 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 55 |
| OBRAS CONSULTADAS | 67 |
| ARTIGO EM LÍNGUA PORTUGUESA | 68 |
| Resumo | 68 |
| Introdução | 69 |
| Materiais e Métodos | 71 |
| Resultados | 75 |
| Discussão | 78 |
| Conclusão | 84 |
| Referências Bibliográficas | 85 |

| | |
|---------------------------------------|----------------|
| ARTIGO EM LÍNGUA INGLESA | 90 |
| Abstract | 90 |
| Introduction..... | 91 |
| Material and Methods | 93 |
| Results | 97 |
| Discussion | 100 |
| Conclusion..... | 105 |
| References | 106 |
| ANEXOS | 111 |
| Tabelas..... | 111 |
| Figuras | 118 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| TABELA 1: Descrição dos resultados da morfometria | 76, 98 |
| TABELA 2: Descrição dos resultados individualizados da morfometria | 111 |
| TABELA 3: Distribuição da alocação dos suínos quanto ao sexo e ao peso nas duas fases do experimento | 112 |
| TABELA 4: Análise da variável peso | 113 |
| TABELA 5: Valores do perfil lipídico obtidos nas duas fases do experimento | 114 |
| TABELA 6: Análise dos dados do perfil lipídico | 115 |
| TABELA 7: Valores do eritrograma e leucometria obtidos nas duas fases do experimento | 116 |
| TABELA 8: Análise dos dados do eritrograma e leucometria | 117 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|--------|
| FIGURA 01: Fotomicrografia da AIC direita (HE – 100x) | 77, 99 |
| FIGURA 02: Fotomicrografia da AIC esquerda (HE – 100x) | 77, 99 |
| FIGURA 03: Suíno da raça mista Landrace x Large White | 118 |
| FIGURA 04: Cateter Fogarty 4F, sistema introdutor e <i>stent</i> auto-expansível | 118 |
| FIGURA 05: Venóclise de veia marginal da orelha do suíno | 118 |
| FIGURA 06: Sala de cirurgia do Hospital Veterinário da UFRGS | 118 |
| FIGURA 07: Detalhe cirúrgico | 119 |
| FIGURA 08: Detalhe cirúrgico | 119 |
| FIGURA 09: Detalhe cirúrgico | 119 |
| FIGURA 10: Detalhe cirúrgico – angioplastia | 119 |
| FIGURA 11: Detalhe cirúrgico - introdução do <i>stent</i> | 120 |
| FIGURA 12: Peça cirúrgica | 120 |
| FIGURA 13: Peça cirúrgica | 120 |
| FIGURA 14: Fotomicrografia da AIC direita (HE – 12,5x) | 120 |
| FIGURA 15: Fotomicrografia da AIC direita (HE – 25x) | 121 |
| FIGURA 16: Fotomicrografia da AIC direita (Verhoeff – 25x) | 121 |
| FIGURA 17: Fotomicrografia da AIC direita (Verhoeff – 100x) | 121 |

| | |
|--------------------------------------------------------------------|-----|
| FIGURA 18: Fotomicrografia da AIC esquerda (HE – 25x) | 121 |
| FIGURA 19: Fotomicrografia da AIC esquerda (HE – 25x) | 122 |
| FIGURA 20: Fotomicrografia da AIC esquerda (HE – 100x) | 122 |
| FIGURA 21: Fotomicrografia da AIC esquerda (Verhoeff – 25x) | 122 |
| FIGURA 22: Fotomicrografia da AIC esquerda (Verhoeff – 100x) | 122 |

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|--------------------------------|------------------------------------------------|
| ATP | angioplastia trans-luminal percutânea |
| LEI | lâmina elástica interna |
| LEE | lâmina elástica externa |
| Lp(a) | lipoproteína (a) |
| HAS | hipertensão arterial sistêmica |
| DM | diabetes melito |
| VCAM-1 | <i>vascular cell adhesion molecule-1</i> |
| IFN-γ | interferon gama |
| TASC | <i>TransAtlantic Inter-Society Consensus</i> |
| PDGF | fator de crescimento derivado das plaquetas |
| bFGF | fator de crescimento básico dos fibroblastos |
| AIC | artéria ilíaca comum |
| ANOVA | análise de variância |
| LSD | <i>least significant difference</i> |
| HE | hematoxilina e eosina |
| SPSS | <i>Statistical Package for Social Sciences</i> |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-----------------------------------|------------------------------------|
| cm | centímetro |
| mmHg | milímetros de mercúrio |
| O₂ | oxigênio |
| H₂O₂ | peróxido de hidrogênio |
| OH | radical hidroxila |
| p | nível de significância estatística |
| kg | quilograma |
| mm | milímetro |
| mg | miligrama |
| g | grama |
| UI | unidades internacionais |
| F | <i>French</i> |
| ml | mililitro |
| μm | micrômetro |
| n | amostra |
| DP | desvio padrão |
| IC | intervalo de confiança |

INTRODUÇÃO

A doença arterial obstrutiva periférica das extremidades inferiores é, isoladamente, uma importante causa de morbidade, que afeta mais de 10 milhões de pessoas nos Estados Unidos da América (EUA), principalmente homens e mulheres acima dos 50 anos. Mais de 70% dos pacientes diagnosticados permanecem estáveis ou melhoram com tratamento clínico por um período de cinco a dez anos, enquanto que os demais 20% a 30% desenvolvem sintomas mais severos e necessitam de investigação para tratamento intervencionista. Menos de 10% evoluem para amputação ⁽¹⁾.

Para o tratamento da maioria dos pacientes portadores das doenças vasculares periféricas, a cirurgia, com interposição de prótese, ainda é a melhor indicação terapêutica. Porém, esse grupo de pacientes apresenta comorbidades que dificultam os procedimentos cirúrgicos maiores. Desse modo, os procedimentos endovasculares constituem uma alternativa à cirurgia, apesar de ainda não estarem completamente definidos quanto à sua durabilidade e ao controle de problemas como a reestenose ⁽²⁾.

As intervenções percutâneas para tratar a doença arterial obstrutiva periférica foram primeiramente descritas por Dotter e Judkins em 1964, como alternativa à cirurgia aberta. A angioplastia trans-luminal percutânea (ATP) por balão tem sido usada com sucesso para tratar artérias coronárias e praticamente todas as grandes artérias viscerais e dos membros. Os melhores resultados da ATP são obtidos em lesões estenóticas curtas, concêntricas e não calcificadas. Apesar dos avanços tecnológicos, a ATP ainda é seguida por uma alta taxa de reestenose em lesões complexas. Muitos mecanismos estão envolvidos na reestenose, incluindo constrição elástica, remodelamento vascular e hiperplasia intimal^(3, 4).

Com a introdução dos *stents*, o problema do recuo elástico e remodelamento vascular foi, em grande parte, resolvido, diminuindo a incidência de reestenose. Entretanto, a hiperplasia intimal, secundária à manipulação arterial, ainda constitui uma complicação indesejável e que piora os resultados a longo prazo, mesmo quando se utilizam os *stents*. Grande parte do sucesso obtido com o uso dos *stents* deve-se ao ganho imediato na luz vascular e não à ação de controlar a hiperplasia intimal⁽⁴⁻⁶⁾.

A ATP também tem consistido em terapia para a recanalização de artérias ocluídas na doença arterial periférica. Contudo, os resultados de perviedade a longo prazo ainda são inferiores aos procedimentos cirúrgicos. O desenvolvimento de guias e cateteres tem facilitado o procedimento em várias situações clínicas. Da mesma forma, os *stents* têm sido indicados nas situações de falha da ATP, no tratamento da reestenose e em certas lesões arteriais complexas^(7, 8).

Hoje, o tratamento da doença vascular periférica é um dos campos em expansão mais rápida da medicina. O número de intervenções periféricas aumentou de 90 mil, em 1994, para mais de 200 mil, em 1997, e estima-se que as técnicas endovasculares logo substituirão cerca de 50% das operações vasculares tradicionais ⁽⁴⁾.

HISTÓRICO

Um dos grandes avanços no campo da doença arterial periférica foi o desenvolvimento da arteriografia por cateterismo. Forsmann ⁽⁹⁾ (1929) observou que um cateter poderia ser inserido através de uma veia periférica e conduzido até as cavidades cardíacas direitas. Ele também sugeriu a injeção de contraste pelo cateter com o propósito de gerar imagens. Essas contribuições valeram-lhe o Prêmio Nobel, em 1953 ⁽¹⁰⁾. Seldinger ⁽¹¹⁾ (1953), através desses conceitos, mostrou que era possível manipular uma agulha e um cateter dentro do sistema arterial.

Em 1958, Mason Sones, Shirey e colaboradores ⁽¹²⁾ realizaram uma angiografia coronária seletiva, durante um procedimento de aortografia. Paralelamente, Kurt Amplatz ⁽¹³⁾ e Melvin Judkins ⁽¹⁴⁾ desenvolveram essa técnica usando abordagem femoral, possível pela técnica de Seldinger.

Com a introdução do cateter balão por Fogarty e colaboradores ⁽¹⁵⁾, em 1963, desenvolveu-se o potencial para o tratamento transluminal das embolias e trombozes arteriais.

O avanço dos procedimentos, antes apenas diagnósticos, para terapêuticos ocorreu em 1964, com Charles Dotter e o apoio de Melvin Judkins ⁽¹⁶⁾, que utilizaram cateteres coaxiais de diâmetro crescente para dilatar estenoses nas artérias das pernas, de modo análogo à técnica de Benique para uretra, em 1846. O método não teve aceitação geral e Dotter, reconhecendo as limitações de seu primeiro sistema com cateteres coaxiais, dilatou uma estenose de artéria ilíaca com sucesso, em 1965, empregando um cateter balão de Fogarty, o que resultou numa perviedade documentada por angiografia durante quatorze anos ^(10, 18).

Em 1967, o método foi importado pela Alemanha Oriental, por Porstmann, e pela Alemanha Ocidental, por Zeitler, que, após centenas de procedimentos, apresentou a técnica para Andreas R. Gruentzig. O “método Dotter” de dilatação foi aperfeiçoado com a introdução do cateter balão por Gruentzig, Hoff e colaboradores, em 1974 ^(10, 18).

Andreas R. Gruentzig ⁽¹⁹⁾, ainda no ano de 1974, introduziu o conceito da dilatação por balão de estenoses arteriais, o qual foi estendido para o sistema coronário, usando um cateter balão de volume fixo. Simpson e alguns colegas aumentaram a versatilidade do cateter balão coronário desenvolvendo um sistema de guias intra-arteriais móveis para facilitar o acesso vascular. Com Reybard, o balão já era uma solução para dilatar a uretra, em 1855. O material usado para o balão tornou-se a chave do sucesso. Porstmann não obteve bons resultados com o balão produzido em látex, já Gruentzig, através da ajuda de um especialista em plásticos da Universidade de Zurique, passou a usar polivinilclorido (PVC). Com isso,

surgiu o cateter balão de Gruentzig que, depois de trinta anos, permanece com suas características básicas ^(10, 18).

Os melhores resultados das dilatações por balão foram obtidos em artérias ilíacas. Esses resultados, porém, eram desapontadores em artérias distais ao ligamento inguinal. As limitações da dilatação por balão (ATP), em termos de falha precoce e de reestenose, levaram Dotter ⁽²⁰⁾, em 1969, a propor um “endoesqueleto” de suporte, ou *stent*, para a artéria. O uso da ATP com balão foi modificado, assim, pela adição do *stent*, na tentativa de prevenir a reestenose. Desenvolveram-se, a partir de então, diversos tipos de *stents* intra-arteriais, para uso em vários pontos anatômicos vasculares com doença arteriosclerótica ^(10, 18, 21, 22).

A primeira ATP coronária foi realizada por Gruentzig, no Hospital Universitário de Zurique, em 16 de setembro de 1977, com sucesso absoluto. Em 28 de março de 1986, cinco meses após a morte de Gruentzig num acidente aéreo, Jacques Puel implantou o primeiro *stent* coronário, em Toulouse, na França. Concomitantemente, em Atlanta (EUA), o grupo de Spencer B. King introduziu o *stent* coronário, usando o dispositivo criado por Cesare Gianturco. Ao mesmo tempo, um grupo na Califórnia trabalhava em um *stent* feito por Júlio Palmaz. Cabe ressaltar que nos anos 1960, Dotter já havia experimentado o *stent* em artérias periféricas e citado essa sua experiência em artigo científico ^(17, 18, 20).

A primeira ATP renal foi realizada por Mahler, antigo colega de Gruentzig, no ano de 1978, em Berna, na Suíça. A primeira ATP de artéria cerebral foi descrita por Sundt e colaboradores em Rochester, Minnessota (EUA), no ano de

1980, tratando uma artéria basilar. A primeira ATP de carótida foi logo a seguir, ainda em 1980, como terapia adjuvante à endarterectomia cirúrgica. Em 1983, a artéria carótida foi tratada primariamente por ATP e, em 1995, foi descrita a primeira inserção de *stent* nesta artéria ⁽¹⁷⁾.

Dotter iniciou a disciplina de intervenções vasculares percutâneas na década de 1960 e Gruentzig contribuiu com o balão para o resultado das intervenções nos anos 1980. Nos anos 1990, a aplicação dos procedimentos se expandiu e foram introduzidas terapêuticas medicamentosas para melhorar os resultados, como antagonistas plaquetários e inibidores de glicoproteínas dentre outros ⁽¹⁷⁾.

Embora tenha havido grande desenvolvimento na aplicação das terapias endovasculares para o tratamento da doença oclusiva arterial, o seu real impacto ainda deve ser melhor determinado. Até o momento, parece que esses métodos não aumentaram as taxas de sucesso terapêutico, comparados aos tratamentos tradicionais. Ensaio clínico randomizados, sempre que possível, devem ser conduzidos para validar essas terapias. Gruentzig costumava dizer: “em dúvida, randomize” ^(10, 17).

PAREDE VASCULAR

A parede arterial é composta por três camadas: a íntima, a média e a adventícia. A camada íntima é composta pelo endotélio e pelo subendotélio e está separada da média pela lâmina elástica interna (LEI). Nas arteríolas, nos capilares, nas vênulas e nas pequenas veias intermediárias, uma membrana basal está regularmente presente. O subendotélio é composto por duas camadas: uma imediatamente situada sob as células endoteliais, chamada de camada de proteoglicanas; outra, mais grossa, chamada de camada músculo-elástica, composta de células lisas, fibras elásticas e colágeno. O tecido elástico é constituído por microfibrilas e elastina, sintetizadas por células endoteliais e células musculares lisas. Laminina, trombospodina, fibronectina e fator de von Willebrand, sintetizados por células endoteliais, musculares lisas, fibroblastos e plaquetas, compõem também a estrutura do subendotélio. A camada média é proeminente na parede de artérias elásticas e é composta por uma ou duas camadas de células musculares lisas nas veias, além de estar separada da camada adventícia pela lâmina elástica externa (LEE). A adventícia é formada por uma camada de tecido conectivo fibroso e contém os *vasa vasorum*, os vasos linfáticos e os nervos ^(23, 24).

ENDOTÉLIO

O endotélio tem um importante papel na homeostasia vascular através da liberação de uma variedade de substâncias autócrinas e parácrinas. Aliado à vasodilatação, um endotélio saudável é antiaterogênico devido aos efeitos que incluem inibição da agregação e da adesão plaquetária, da proliferação de células musculares lisas e da adesão leucocitária. A disfunção de células endoteliais é um processo sistêmico e o evento inicial da arteriosclerose, além de ser importante nas manifestações isquêmicas da doença ⁽²⁵⁾.

A disfunção celular endotelial ocorre na presença da arteriosclerose ou de seus fatores de risco, principalmente a hipercolesterolemia. Nos últimos cinco anos, tem se obtido maior acesso às funções endoteliais através de novas metodologias científicas ⁽²⁵⁾.

O controle vascular local depende do balanço entre vasodilatação e vasoconstrição, tendo o óxido nítrico, dependente do endotélio, o papel mais importante nessa regulação e recebendo uma variedade de estímulos que são a base para o acesso da vasodilatação dependente do endotélio. O maior oponente

das substâncias vasodilatadoras é a endotelina, um 21-amino ácido peptídeo e potente vasoconstritor. Além disso, um sistema renina-angiotensina local existe em tecidos como o endotélio vascular, o coração e os monócitos, sendo a angiotensina II outro importante vasoconstritor local ⁽²⁵⁾.

Entre as principais ações do endotélio sadio, podem ser citadas:

- efeito vasomotor: em pessoas saudáveis, o efeito predominante da estimulação do endotélio é a vasodilatação;
- adesão leucocitária: não só é importante nos estágios iniciais da aterogênese, mas também contribui para a instabilidade e a ruptura da placa. As propriedades antiinflamatórias do endotélio saudável são importantes na prevenção da arteriosclerose e das síndromes coronárias isquêmicas;
- função plaquetária: o óxido nítrico tem efeito antitrombótico através de potentes propriedades antiagregantes e antiadesivas ⁽²⁵⁾.

Outras funções do endotélio saudável compreendem, ainda, controle da coagulação, fibrinólise, inflamação, aderência eritrocitária, vasorregulação, permeabilidade vascular e angiogênese ⁽²⁵⁾.

São inúmeras as condições clínicas relacionadas com o prejuízo da vasodilatação dependente do endotélio: arteriosclerose, hipercolesterolemia, baixo HDL, partículas LDL pequenas, oxidação de LDL, hipertrigliceridemia pós-prandial aguda, altos níveis de lipoproteína(a) [Lp(a)], hipertensão arterial sistêmica (HAS), resistência à insulina, diabetes melito (DM) tipo I e II, hiperglicemia, idade avançada, hiperhomocisteinemia, vasculites, aterosclerose em transplante, tabagismo ativo e

passivo, síndrome X e angina instável, miocardiopatia dilatada, doença de chagas, qualquer causa de insuficiência cardíaca, história familiar de doença coronária, pós-menopausa, pós-doença de Kawasaki, pré-eclampsia ou HAS induzida pela gestação, hipertensão pulmonar, depósitos de metionina, entre outras ⁽²⁵⁾.

O *stress* oxidativo parece ter um papel primordial na disfunção endotelial e caracteriza todos esses fatores de risco. A hipercolesterolemia induz a inúmeras mudanças na homeostasia vascular, reduzindo o óxido nítrico bioativo, aumentando a produção de superóxidos, aumentando a imunorreatividade da endotelina, aumentando as moléculas de adesão e diminuindo a vasodilatação dependente do endotélio. A combinação de DM e HAS tem efeito aditivo na adesão de monócitos. Parece que a lesão endotelial induzida pelo colesterol está relacionada ao grau de oxidação do LDL. Elevações agudas de ácidos graxos e triglicérides atenuam a resposta vasodilatadora por várias horas e a hiperglicemia aguda também prejudica a resposta vasomotora ⁽²⁵⁾.

Existe consenso de que a lesão endotelial é o evento inicial na arteriosclerose e tem um papel importante nas manifestações isquêmicas da doença coronária ⁽²⁵⁾.

ARTERIOSCLEROSE

A arteriosclerose é uma doença sistêmica que afeta a qualidade e a expectativa de vida, sendo a maior causa de morbidade e mortalidade no ocidente ⁽²⁶⁾.

Estudos epidemiológicos, assim como a *Atherosclerosis Risk in Communities* ⁽²⁷⁾ (ARIC, 2000), identificaram fatores de risco como tabagismo, DM, HAS e dislipidemia na patogênese da aterosclerose, estando todos estes fatores independente e positivamente associados com a arteriosclerose coronariana. Vários outros novos fatores de risco têm sido implicados nessa gênese, como hiperhomocisteinemia, níveis plasmáticos elevados de Lp(a), excessos de depósitos de ferro, desequilíbrio entre espécies oxidantes e antioxidantes e hipercoagulabilidade. Vários marcadores genéticos têm sido estudados na arteriosclerose, como polimorfismo da enzima conversora de angiotensina e antígenos leucocitários humanos (HLA)-DR classe II ⁽²⁸⁾.

Estudos clínicos e experimentais dos marcadores de inflamação e mediadores inflamatórios plasmáticos em amostras de tecidos com arteriosclerose

evidenciam a presença de processo inflamatório ou auto-imune. Novos dados sugerem que infecção bacteriana, viral ou parasitária podem iniciar o processo inflamatório. Outro foco de estudos na fisiopatologia da arteriosclerose e sua manifestação clínica é o papel do óxido nítrico como vasodilatador produzido pelo endotélio vascular e a alteração na sua síntese, liberação e atividade ⁽²⁸⁾.

Os gatilhos da resposta inflamatória na aterogênese estão associados aos fatores de risco já determinados, além de outros ainda em estudo. A resposta inflamatória tem sido estudada com relação à oxidação das lipoproteínas, dislipidemias, HAS, DM, obesidade e infecção ⁽²⁹⁾.

A gênese da doença arterial periférica de membros inferiores deve ser considerada através do estudo da patogênese geral da aterosclerose, que é descrita a partir de três estágios: início da lesão, progressão e complicações da placa ⁽³⁾.

O primeiro estágio envolve migração de monócitos na camada íntima dos vasos. Esse processo inflamatório depende de, pelo menos, dois grupos de moléculas de adesão, as selectinas e as imunoglobulinas. As VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule-1*), presentes nas células endoteliais, respondem pela adesão de monócitos e linfócitos ⁽³⁾.

Após o início da adesão leucocitária, há uma mediação química por citocinas que potencializa a migração das células para a camada íntima, num processo que ainda não está bem definido, mas que conta com a participação das lipoproteínas oxidadas e das alterações hemodinâmicas locais. Pode existir auto-

regulação na fase inicial do processo de adesão de moléculas através do óxido nítrico com suas funções antiinflamatórias e vasodilatadoras. O fluxo sanguíneo laminar normal potencializa a síntese de óxido nítrico pelas células endoteliais, aumentando a sua concentração local. Em contraste, o fluxo turbulento apresenta efeito inverso ⁽³⁾.

Uma vez que os leucócitos tenham migrado para a camada íntima por diapedese, eles acumulam lipídios e assumem a forma de macrófagos xantomatosos (*foam cells*), formando o processo inicial da estria gordurosa (*fatty streak*). Até esse ponto, o processo pode ser reversível, mas o acúmulo dos macrófagos xantomatosos na camada íntima avança, adquire características fibrosas com a migração de células musculares lisas e a elaboração de macromoléculas extracelulares, formando a matriz fibrosa. As células musculares lisas ainda expressam proteínas envolvidas na osteogênese, que acumulam cálcio na placa ateromatosa ⁽³⁾.

O terceiro estágio, a formação da placa “instável”, é iniciado pela exposição de substâncias trombogênicas subintimais à luz vascular, que é protegida por uma capa fibrosa de colágeno produzida pelas células musculares lisas na placa aterosclerótica. Existem duas características que determinam se a placa será estável ou não: a espessura da placa fibrosa e a quantidade de colágeno presente. Além disso, fatores sistêmicos são determinantes na estabilidade da placa, bem como a inflamação, que pode inibir a síntese de colágeno. Macrófagos, através de metaloproteinases e catepsinas podem digerir e degradar o colágeno e a elastina da

placa, do mesmo modo que a apoptose de células musculares lisas mediada por citocinas inflamatórias, que também podem diminuir o colágeno da capa fibrosa ⁽³⁾.

Substâncias pró-agregatórias subintimais são expostas quando a capa fibrosa da placa aterosclerótica é rompida. Os fatores teciduais expostos iniciam a cascata da coagulação. Com a exposição do fator de von Willebrand ocorre a adesão plaquetária com secreção de trombina, serotonina, adenosina difosfato e tromboxane A₂. A matriz de plaquetas e fibrinogênio pode progredir de duas formas: primeiro, se sua adesão é forte à parede do vaso, ela continua crescendo até a obstrução da luz pelo trombo; no segundo caso, a sua fraca adesão e a força do fluxo sanguíneo podem descolar a matriz, ocluindo vasos a distância por embolização ⁽³⁾.

A infecção dos componentes celulares da placa arterial, por exemplo devido a *Chlamydia pneumoniae*, também é implicada como fator etiológico na aterogênese, ainda não bem esclarecido, pelo aumento da expressão de proteínas pró-coagulantes e pela atividade de quimioatração ⁽³⁾.

Em modelos animais de arteriosclerose induzida por dieta hipercolesterolêmica, as primeiras células a aparecerem na superfície do endotélio são monócitos que migram para a camada subendotelial, englobam o colesterol oxidado e transformam-se em macrófagos. A camada lipídica da região aterosclerótica é caracterizada pela presença de linfócitos T, que marcam o processo imune. Os linfócitos T ativados inibem a síntese de colágeno pela secreção de interferon gama (IFN- γ) e, assim, intervêm na manutenção e reparo da

membrana de colágeno da placa fibrosa de arteriosclerose. O IFN- γ facilita a formação, a retenção e a ativação de macrófagos, que destroem tanto o colágeno como a elastina. A liberação de citocinas estimula a neovascularização, a trombose e a perda da atividade endotelial de produzir óxido nítrico. A ruptura dos canais neovasculares provoca hemorragia e trombose. A esse processo é atribuída a evolução das síndromes coronárias instáveis ⁽²⁸⁾.

Arteriosclerose é uma doença desenvolvida por múltiplos processos, com vários fatores de risco diferentes bem definidos. É improvável que um processo patogênico único possa explicar esse problema, que afeta um terço da população mundial ⁽²⁸⁾.

ANGIOPLASTIA TRANS-LUMINAL PERCUTÂNEA (ATP)

O objetivo primário da ATP é o aumento do diâmetro do lúmen arterial, de modo a restabelecer a adequada perfusão tecidual. Dois mecanismos têm sido descritos para explicar o efeito da ATP na parede arterial: a fratura da placa, cuja manifestação mais evidente é a dissecção arterial localizada, e o estiramento da túnica média e adventícia, com afinamento dessas camadas. A ATP por balão tem sido usada com sucesso para tratar doença vascular periférica, oferecendo bom resultado imediato e tardio ^(7, 18, 22, 30).

Os métodos diagnósticos e terapêuticos endovasculares compreendem a utilização de diversos materiais, os quais estão em constante desenvolvimento na tentativa de facilitar os procedimentos nas mais variadas situações clínicas:

- guias: facilitam o posicionamento e dão suporte aos cateteres, com duas configurações básicas, reta ou “J”. Possuem corpo rígido e ponta macia para evitar lesão à camada íntima arterial;
- dilatadores: são utilizados para aumentar o orifício de entrada na parede arterial;
- bainhas introdutoras: estabelecem um acesso arterial permanente, permitindo as necessárias trocas de cateteres;

- cateteres: usados para facilitar a injeção de contraste e a troca de guias, apresentando uma variedade de configurações. Exemplos: *Pigtail*, *Cobra*, *Simmons*;
- cateteres-guia: utilizados para a cateterização seletiva de artérias de pequeno calibre e segmentos angulados, garantem a abordagem e a manutenção do acesso;
- cateteres-balão: diferem quanto ao material, mecanismo de insuflação e comprimento, devendo apresentar um diâmetro final de 10 a 20% superior ao lúmen do vaso a ser dilatado ^(7, 18).

A abordagem do sistema arterial é realizada preferencialmente por via femoral, braquial ou axilar, seguindo os princípios descritos por Seldinger em 1953, através de punção retrógrada ou anterógrada ^(7, 18).

A ATP de vasos ilíacos tem o melhor resultado, principalmente nas estenoses focais ateroscleróticas ⁽¹⁸⁾. De acordo com o *TransAtlantic Inter-Society Consensus* ⁽³¹⁾ (TASC, 2000), a angioplastia do setor arterial ilíaco é indicada para:

- estenoses menores de 3 cm na artéria ilíaca comum ou ilíaca externa;
- maior número de evidências são necessárias para recomendar o tratamento endovascular para estenoses mais longas (3 a 10 cm), duas estenoses menores de 5 cm em ilíaca comum ou externa, oclusão de ilíaca comum ou externa, ou ainda estenose com extensão para artéria femoral comum;
- contra-indicada para oclusões envolvendo ilíaca comum e externa, oclusão bilateral de ilíaca externa, doença difusa do setor aorto-ilíaco ou estenose ilíaca associada a outras lesões do setor aorto-ilíaco que necessitem cirurgia.

As limitações da ATP dizem respeito a situações anatómicas desfavoráveis ou características anatómicas e fisiológicas da lesão. As complicações mais comuns do procedimento são: hematoma ou infecção do sítio de punção, sangramento durante ou após o procedimento, oclusão aguda, falha técnica, dissecação com *flap* intimal ou dilatação subintimal, pseudo-aneurisma, insuficiência renal temporária, embolização distal, ruptura arterial, fístula artério-venosa, lesão de nervo femoral, ruptura da área submetida à angioplastia, hemorragia retroperitoneal, além de reações ao contraste e quebra do cateter ^(6, 7, 18).

Becker e colaboradores ⁽³²⁾ (1989), em revisão da literatura de 2697 casos submetidos à ATP de artéria ilíaca, observaram uma perviedade de 81% em dois anos e de 72% em cinco anos.

Wilson e colaboradores ⁽³³⁾ (1989), comparando a ATP com a cirurgia na mesma localização descrita anteriormente, num ensaio clínico randomizado, demonstraram não haver diferença significativa nesses dois grupos em três anos.

Johnston ⁽³⁴⁾ (1993) analisou 984 casos destes procedimentos para claudicação e salvação de membro, descrevendo perviedade de 65% em dois anos e de 53% em cinco anos.

Existem dois ensaios clínicos randomizados na literatura comparando o tratamento clínico com a ATP em pacientes com claudicação por doença aterosclerótica do setor ilíaco-femoral. No estudo de Edimburg, foram selecionados

62 pacientes com estenoses ou oclusões curtas de artéria ilíaca ou femoral superficial, randomizando entre tratamento clínico (aspirina, exercícios programados e abolição do fumo) e ATP. Ambos os grupos não apresentaram diferenças quanto ao índice pressórico tornozelo/braço, distância de claudicação ou qualidade de vida ao fim de dois anos ⁽⁷⁾.

No estudo de Oxford, 56 pacientes com estenoses ou oclusões curtas ilíaco-femorais foram separados em dois grupos, sendo o primeiro submetido a exercícios programados e o segundo à ATP. Houve melhora no índice pressórico tornozelo/braço no grupo da ATP, sem melhora significativa da distância média da claudicação. Aos seis, nove e doze meses houve melhora significativa da distância da claudicação no grupo clínico. Não houve diferença estatisticamente significativa na avaliação de 37 dos 56 pacientes após seis anos entre os dois grupos, quanto à claudicação. Ambos os estudos envolveram pacientes com níveis diversos de doença arteriosclerótica e ATP de setor ilíaco e femoral, sem estratificar os resultados ⁽⁷⁾.

Quanto à ATP femoral, Murandin e colaboradores ⁽³⁵⁾ (2001), em metanálise de dezenove estudos envolvendo 923 angioplastias e 473 implantes de *stents*, descreveram perviedade em três anos, sem o uso de *stent*, de 61% para estenose e claudicação, 48% para oclusão e claudicação, 43% para estenose e isquemia crítica e 30% para oclusão e isquemia crítica.

STENTS

Os *stents*, ou fixadores endovasculares, são próteses metálicas inseridas na luz vascular, cuja função é manter a perviedade do vaso. O propósito inicial de seu desenvolvimento por Dotter, em 1969, era o tratamento das complicações relacionadas à ATP ⁽⁷⁾.

Henry e colaboradores ⁽³⁰⁾ (2000) destacaram como propriedades ideais de um *stent* intravascular:

- alta opacidade para melhor visualização, facilitando o implante;
- grande força radial para resistir ao remodelamento elástico;
- mínima variação de formato após implantado, para aumentar precisão;
- sistema de implante simples e fácil de manipular;
- flexibilidade longitudinal para cruzar vasos tortuosos e bifurcação aórtica;
- elasticidade radial para resistir à compressão externa sem deformação permanente, sobretudo em locais de articulação;
- pequeno perfil com grande expansão para passar por pequenos introdutores e estenoses críticas;
- fácil resgate para o caso de falha na implantação;

- ramo lateral acessível;
- mínima indução de hiperplasia intimal;
- resistência à trombose e à corrosão;
- durabilidade;
- baixo preço.

Os *stents* podem ser distinguidos por vários fatores, como o mecanismo de implante (auto-expansivo, balão-expansivo ou memória térmica), o seu desenho estrutural (tubular, mola) e sua composição metálica. A espessura metálica, a cobertura da parede vascular e a força radial também variam de acordo com os dispositivos ⁽³⁶⁾.

Os *stents*, hoje confeccionados em diversos materiais, como aço inoxidável 304 SS, 316L SS, tântalum, elgiloy (SS), nitinol (níquel e titânio), platinum, liga de cobalto, podem ser classificados de várias formas, sendo a mais utilizada a que caracteriza o mecanismo de expansão:

- *stents* auto-expansíveis: com alta flexibilidade, permitem a expansão a um limite pré-determinado após a remoção da bainha introdutória. São relativamente fáceis de implantar, porém com pequena resistência à compressão radial. Exemplos: *Spring-loaded*[®], *Wallstent*[®], *Endoprosthesis*[®], *Gianturco Z*[®] (Cook);
- expansão térmica: assumem o seu formato original após exposição à temperatura corporal. O protótipo é o *stent* de nitinol, tendo como exemplos: *Smart*[®] (Cordis), *Symphony*[®] (Boston Cientific);
- *stents* expansíveis por balão: contidos em uma bainha e revestindo um balão de angioplastia, apresentam boa resistência à compressão radial, mas pouca

flexibilidade longitudinal, podendo ser reinflados com um balão maior. Exemplos: *Gianturco-Roubin*[®], *Flexstent*[®] (Cook), *Wiktor*[®] e *Bridge*[®] (Medtronic), *Jostent*[®] (Jomed)^(7, 18, 22, 37).

Esses dispositivos sempre causam importante lesão na parede vascular, com proliferação neo-intimal correspondente a esta lesão. Pesquisas mostraram respostas variadas de acordo com a localização da lesão, condições clínicas e angiográficas do paciente, além do modelo do *stent*, do material e da técnica de implantação, com diminuição da proliferação neo-intimal com o implante do *stent* sem dilatação prévia^(36, 38).

Quanto à opção pela forma de inserção do *stent*, Henry e colaboradores⁽³⁰⁾ (2000) dividem-na em:

- *stent* direto: implante do dispositivo antes da dilatação por balão;
- *stent* primário: inserção pré-determinada após ATP;
- implante seletivo de *stent*: inserção após resultado subótimo da ATP.

A escolha do *stent* depende da experiência do operador, da disponibilidade do dispositivo, do acesso utilizado e da localização e característica da lesão. A maioria dos *stents* são implantados de forma seletiva, sendo indicados em estenose residual, recuo elástico, resultado ruim com gradiente pressórico, dissecação e reestenose. Já o *stent* primário pode ser empregado em caso de oclusões, lesões de alto risco para reestenose e lesões maiores de 8 cm, difusas, excêntricas ou ulceradas^(30, 39).

Em 1992, o *stent* balão expansivo de Palmaz recebeu aprovação do FDA (*US Food and Drug Administration*) para uso após ATP ilíaca subótima ⁽⁴⁰⁾. De acordo com o TASC ⁽³¹⁾ (2000), as indicações atuais para o uso do *stent* em artéria ilíaca são:

- resultado hemodinâmico insuficiente da ATP;
- dissecção com obstrução luminal;
- tratamento de oclusões crônicas;
- placa ulcerada sintomática;
- restenose após ATP prévia;
- lesões complexas.

Os *stents* apresentaram melhor resultado após falha ou resultado insatisfatório da ATP (gradiente transtestenótico >5 mmHg ou estenose >30%), complicações como dissecção ou *flap* intimal, ulcerações de placa, oclusões e reestenose. Seu uso é limitado em casos de tortuosidade severa do vaso e lesões muito calcificadas. A artéria ilíaca é o local mais comum de seu uso e onde se obtêm os melhores resultados, sendo o tratamento inicial de escolha para lesões focais (<5 cm), com sucesso imediato de 90%, taxa de perviedade de 73% em dois anos, menos de 10% de complicações e mortalidade menor que 1% ^(6, 7, 22, 37, 41).

Os *stents* também têm sido usados em lesões de anastomose de *bypass* e como componentes de outros dispositivos, para uso em fístulas artério-venosas, no trauma vascular, como veículo para aplicação de drogas e, em combinação com outras endopróteses arteriais ou não, para mantê-las pérvias ou em posição adequada ^(18, 21).

Teruchkin ⁽⁴²⁾ (2002) relatou testes em cadáveres de um modelo experimental que avalia a força necessária para o deslocamento dos *stents* implantados na aorta abdominal, concluindo que a confecção de farpas na superfície externa dos *stents* parece ser uma alternativa útil para a melhoria do desempenho das endopróteses na correção do aneurisma da aorta abdominal.

A falência precoce da ATP deve-se principalmente ao recuo elástico da parede vascular, à dissecação intimal e à falha da resposta à dilatação (placas muito calcificadas ou oclusão). Reestenose gradual e subaguda pode ocorrer, sendo causada, provavelmente, por hiperplasia fibromuscular ou rápida progressão do processo de arteriosclerose. Em suas hipóteses, os pesquisadores consideraram que o *stent* poderia servir como um suporte dentro da artéria, a fim de manter a perviedade do vaso e controlar o processo oclusivo. Os *stents* dilatam de forma mais eficaz as lesões ateroscleróticas do que a angioplastia e reduzem a reestenose, uma vez que atenuam o remodelamento vascular constritivo. Entretanto, a hiperplasia neo-intimal ainda é a principal causa de reestenose em *stents* ^(18, 22, 36, 43).

Muitos pesquisadores acreditam que maximizar a luz do vaso é a chave para reduzir a reestenose, pois, apesar do grau de lesão e da reação intimal, o impacto da proliferação neo-intimal é contrabalançado pelo importante ganho na dimensão da luz arterial, inclusive porque o remodelamento geométrico, importante no processo de reestenose, é contido pelo *stent* ^(18, 22, 36).

Palmaz e colaboradores ⁽⁴⁴⁾ (1992), em um ensaio clínico multicêntrico, usando o seu *stent* em artérias ilíacas de 486 pacientes, relatou taxa de sucesso de 90,9% em um ano, de 84,1% em dois anos e de 68,6% em 43 meses.

O *Dutch Iliac Stent Trial Study Group* ⁽⁴⁵⁾ (1996) comparou o *stent* primário com a ATP e a inserção seletiva do *stent* em pacientes com claudicação por doença obstrutiva da artéria ilíaca. No grupo ATP, o sucesso técnico primário foi de 97,5%, com sucesso hemodinâmico em 97% das artérias recanalizadas. Em dois anos, o sucesso clínico foi de 78% e 76%, o sucesso hemodinâmico foi de 85% e a perviedade controlada por ultrassonografia duplex foi de 71% e 70%, respectivamente para os grupos *stent* e ATP mais *stent*. Em seu estudo, Tetteroo e colaboradores mostraram que o método de melhor custo-efetividade para o tratamento da doença arterial estenótica é a ATP primária, deixando o uso do *stent* como evento secundário com as suas indicações durante o mesmo procedimento.

Ainda em relação ao uso de *stent* comparado à ATP em artérias ilíacas tem-se os estudos randomizados e prospectivos de Richter e colaboradores ⁽⁴⁶⁾ (1993) e o de Tetteroo e colaboradores ⁽⁴⁷⁾ (1998). O primeiro afirma que o sucesso clínico, após dois anos, foi maior no grupo submetido ao implante de *stent* (93% contra 70%). O segundo não demonstrou diferença estatisticamente significativa quanto à claudicação, após dois anos, entre os dois grupos.

Em 1994, o *stent* Strecker foi implantado em 214 artérias ilíacas e em 131 artérias femorais superficiais, em um grupo de pesquisa, com sucesso técnico

inicial de 100% e de 93% respectivamente, além de 84% de perviedade clínica em seis meses na artéria ilíaca e de 47% em três anos na artéria femoral ⁽⁴⁸⁾.

Vorwerk e colaboradores ⁽⁴⁹⁾ (1995), utilizando *Wallstent* em oclusões ilíacas, observaram taxa de permeabilidade primária de 78%, 81% e 54% em um, três e cinco anos de acompanhamento, respectivamente, excluindo os insucessos técnicos iniciais.

Bosch e Hunink ⁽⁵⁰⁾ (1997), após meta-análise de quatorze estudos de ATP e *stent* em pacientes com doença obstrutiva aorto-ilíaca, incluindo mais de 2000 pacientes, descreveram taxa de sucesso técnico imediato de 91% para ATP e de 96% para ATP seguida do implante de *stent*, com taxas de perviedade, em quatro anos variando de 7% a 14% maior no grupo tratado com *stent*, sugerindo que este grupo pode melhorar a perviedade dos procedimentos endovasculares e, com isso, reduzir o risco de falha tardia em até 39% quando comparado à ATP isoladamente.

Dyet e colaboradores ⁽⁵¹⁾ (1997) mostraram que o uso do *stent* em artérias ilíacas ampliou a possibilidade de tratamento endovascular em lesões de anatomia difícil, com sucesso primário de 85% após um ano de acompanhamento com o uso de *Wallstent*. Todavia, Tetteroo e colaboradores falharam em provar a superioridade do *stent* primário sobre a ATP com implante seletivo do *stent* no ensaio clínico randomizado de pacientes com doença oclusiva de artéria ilíaca ^(45, 47).

Cejna e colaboradores ⁽⁵²⁾ (1998), em um estudo randomizado para comparar ATP fêmoro-poplítea e implantação de *stent* Palmaz, descreveram perviedade primária em um ano de 64% e de 62%, respectivamente.

Grimm e colaboradores ⁽⁵³⁾ (2001), em ensaio clínico randomizado comparando a ATP com a implantação de *stent* em lesões estenóticas femoro-poplíteas de mesmo grau, encontraram diferença significativa no grau de estenose remanescente após a intervenção no primeiro grupo, provavelmente pela força radial do *stent*, prevenindo o remodelamento elástico após desinsuflar o cateter balão. Entretanto, ao longo do tempo, esse benefício foi mascarado pela perda luminal por hiperplasia intimal, apresentando, ambos os grupos, taxas de perviedade semelhantes.

Murandin e colaboradores ⁽³⁵⁾ (2001), como já citado, em metanálise envolvendo 923 angioplastias e 473 implantes de *stents* em artérias femorais, descreveram perviedade em três anos com o uso do *stent* de 66% para qualquer indicação clínica (claudicação ou isquemia crítica) e grau de oclusão.

Um consenso é ainda mais difícil no tratamento das lesões de artérias viscerais e ramos do arco aórtico, já que não existem séries com números razoáveis de casos na literatura ou estudos prospectivos randomizados.

REESTENOSE

A reestenose, ou perda do ganho inicial no calibre da luz arterial após procedimento vascular, depende do grau de lesão causado pelo *stent* e pela angioplastia, correlacionando-se com a formação neo-intimal e o tamanho subsequente do vaso. Quanto mais o vaso for dilatado, maior será a lesão produzida, mais neo-íntima será formada; porém, o alargamento do vaso pode acomodar uma grande massa de neo-íntima sem estreitamento luminal. Somente se a perda luminal tardia, incluindo formação neo-intimal e remodelamento vascular, excedem o ganho luminal agudo ter-se-á desenvolvido uma lesão estenótica. Esse fenômeno também tem sido observado nos estudos experimentais em artérias periféricas de coelhos e de suínos ^(2, 54, 55).

A migração e a proliferação de células musculares lisas, bem como a deposição de matriz extracelular são os principais mecanismos de reestenose. O endotélio é rompido pelo cateter balão durante a ATP, produzindo agregação plaquetária e aderência de leucócitos ao leito vascular lesado. As plaquetas ativadas liberam moléculas adesivas como fibrinogênio, fibronectina, trombospondim e fator de von Willebrand, promovendo a formação do trombo intramural. Além disso, as

plaquetas ainda liberam substâncias que induzem vasoconstrição, mitose e migração celular, incluindo fatores de crescimento, como fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fatores de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento básico dos fibroblastos (bFGF), fator de crescimento- β transformado (TGF- β) e fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF) ⁽⁵⁶⁾.

A dissecação e a fratura da camada íntima e média arterial aumentam a concentração local de radicais livres de oxigênio, como O_2 , H_2O_2 e OH . O *stress* oxidativo, definido como o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes do organismo durante a injúria tecidual, pode ativar genes envolvidos na resposta inflamatória. Os radicais livres são encontrados em níveis elevados nos pacientes com fatores de risco para doença arterial periférica, como tabagismo, DM e hipercolesterolemia. Dados experimentais sugerem que o crescimento de células musculares lisas da camada média arterial, além de ser mediado por peptídeos de crescimento, sofre o efeito estimulatório direto dos radicais livres na sua capacidade mitótica por meio do aumento do cálcio intracelular, da ativação da proteína-quinase, do aumento da expressão de proto-oncogenes e da estimulação da síntese de DNA. Em pacientes com doença coronariana, o uso de antioxidantes, como vitamina E e Probuco, auxiliou na prevenção de reestenose, mas não existem dados sobre seus efeitos em doença arterial periférica ⁽⁸⁾.

Modelos suínos parecem refletir a patogênese da reestenose humana muito bem e estão sendo largamente utilizados em vários estudos ^(54, 57, 58). O foco de pesquisa, nestes modelos suínos, também tem sido o papel das células

musculares lisas na formação neo-intimal. Dados obtidos em artérias coronárias humanas indicam, entretanto, que a reestenose depende mais do remodelamento geométrico pós-intervenção do que da formação neo-intimal. Andersen e colaboradores (1996), em um estudo experimental envolvendo coronárias de suínos, demonstraram que a ATP produz uma profunda lesão circunferencial na parede vascular, que cicatriza com estreitamento luminal, sendo que o remodelamento arterial é mais importante do que a formação neo-intimal no estreitamento da luz vascular ⁽⁵⁴⁾.

Dados de estudos em humanos e experimentais sugerem que o espessamento intimal, em muitos casos, não resulta em reestenose ou redução luminal após ATP. Faxon e colaboradores ⁽⁵⁹⁾ (1995) afirmam que a falha de remodelamento para manter a dilatação da ATP pode ser mais importante que o espessamento intimal. Nos estudos de ativação inflamatória após lesão por cateter balão, acredita-se que as citocinas podem regular os eventos moleculares que determinam o remodelamento geométrico das artérias lesadas ⁽⁵⁾.

Torres Jr. ⁽⁶⁰⁾ (2000) em estudo experimental de injúria vascular em coelhos, concluiu que a angioplastia por balão produziu resposta na camada média da artéria, caracterizada por proliferação celular expressa pela detecção do antígeno nuclear de proliferação celular.

Kakuta e colaboradores ⁽⁶¹⁾ (1994), em modelo de coelho com arteriosclerose induzida, descreveram que o estreitamento luminal tardio foi causado predominantemente pela constrição do remodelamento geométrico vascular. Dados

recentes em humanos indicam que o remodelamento geométrico tem um papel importante na reestenose. Assim sendo, os modelos animais corroboram com a experiência observada em humanos. A maior limitação dos modelos animais é a falta de doença preexistente na parede vascular, como a arteriosclerose em humanos^(54, 62).

A inserção do *stent* no tratamento das lesões ateroscleróticas é precedida por ATP até mesmo nos *stents* auto-expansíveis, o que inicia o processo de remodelamento na parede arterial. Os *stents* reduzem o fluxo sanguíneo turbulento, a constrição elástica e o espasmo arterial. A proliferação das células musculares lisas na camada média inicia logo após o dano arterial e se correlaciona com o desenvolvimento tardio da hiperplasia intimal. Cwikiel e colaboradores⁽⁶³⁾ (1997), em estudo experimental, mostraram que o número de células musculares lisas proliferativas na camada média é significativamente menor após a inserção do *stent*, quando comparado à ATP em artérias ilíacas de suínos. Outros estudos deveriam avaliar as mudanças estruturais da parede arterial após longo período de observação.

A estrutura do *stent* ou trombos depositados é responsável por infiltração inflamatória que, durante o exame imuno-histológico de artérias periféricas de humanos, após implante de *stent*, no estudo de Inoue e colaboradores⁽²⁾ (2002) mostraram significativa infiltração de leucócitos, incluindo macrófagos e linfócitos-T, o que sugere que o aumento da replicação celular na porção mais interna da camada íntima arterial e o acúmulo de matriz extracelular ao redor da estrutura do *stent* e outras partes da camada íntima são dois mecanismos que contribuem para a

formação da lesão. Estudos prévios também descreveram infiltração celular na estrutura do *stent*. O *stent* é um corpo estranho intravascular, de modo que os leucócitos circulantes aderem à superfície da lesão intimal, mesmo que o *stent* esteja recoberto por neo-íntima.

Uma vez que os *stents* neutralizam os efeitos geométricos, incluindo remodelamento, em artérias tratadas, ensaios clínicos sugerem que a hiperplasia de células musculares lisas e a apoptose são as principais causas de proliferação intimal e reestenose após o implante do *stent* ⁽⁶⁴⁾.

A formação da hiperplasia intimal consiste de três processos: replicação celular, migração celular e acúmulo de matriz extracelular na parede arterial. Estudos experimentais revelam que a primeira onda de lesão consiste na replicação de células musculares lisas dentro da camada média arterial durante os primeiros dois dias após a lesão, envolvendo o bFGF. A segunda onda de lesão envolve migração de células musculares lisas da sua posição normal, na túnica média, para a camada íntima. Estudos estabeleceram que produtos das plaquetas, como o PDGF são importantes sinais dessa migração, agindo por quimioatração e não por mitogênese, além da ação das enzimas, que permitem a passagem das células musculares lisas pela lâmina elástica interna, a qual contém fenestrações, e pela matriz extracelular. A síntese e o acúmulo de matriz extracelular, observado ao redor da estrutura do *stent*, mais dependente de colágeno, elastina e proteoglicanas do que de replicação celular dentro da camada íntima, constitui a terceira (e menos compreendida) onda de lesão, levando à formação da nova íntima hiperplásica com pico entre uma e duas semanas após a lesão ^(2, 5, 65, 66).

Investigações estudaram experimentalmente uma resposta inflamatória sustentada após a lesão endotelial, marcada por ICAM-1 (*intracellular adhesion molecule – 1*), VCAM-1, antígenos de histocompatibilidade classe II (MHC II) e citocinas, como o fator de necrose tumoral alpha (TNF- α), como mediadores de citocinas pró-inflamatórias no processo tardio de resposta à lesão arterial ⁽⁵⁾.

Em modelos suínos, 24 horas após o implante do *stent*, observa-se a presença de fibrina, plaquetas, monócitos e leucócitos polimorfonucleares. Em sete dias, o trombo apresenta organização, estando associado com macrófagos, neutrófilos e células musculares lisas. De duas a quatro semanas, a predominância é de proliferação de células musculares lisas. Há ainda reação das células gigantes multinucleares à estrutura do *stent*. As camadas profundas tornam-se menos celulares e com mais colágeno, enquanto as camadas superficiais continuam celulares e com matriz extracelular ⁽²⁾.

Anderson e colaboradores ⁽⁶⁷⁾ (1992), em análise de patologia de fragmentos de artérias em região com *stent* retiradas cirurgicamente de dois pacientes, revelaram células musculares lisas com citoplasma eosinofílico abundante e pouco tecido intersticial e van Beusekom e colaboradores ⁽⁶⁴⁾ (1993) afirmaram que, em quatro pacientes com reestenose em *stent* implantado em anastomose de *bypass* de veia safena, o tecido que espessava a parede vascular consistia de células musculares lisas dentro de extensa matriz extracelular. Kearney e colaboradores ⁽⁶⁸⁾ (1997) em estudo de peças de artérias periféricas com *stent*, de dez pacientes, mostraram importante e prolongada replicação celular, corroborando

os achados anteriores. Schwartz e colaboradores ⁽⁶⁹⁾ (1992) sugeriram que o trombo mural pode constituir a infra-estrutura primordial que é subseqüentemente colonizada por células musculares lisas ativadas.

Estudos experimentais com *stent* em modelos animais também mostram aumento da replicação celular na camada íntima após o implante. Kollum e colaboradores ⁽⁷⁰⁾ (1997) compararam, em modelo animal de coelho o tempo de replicação celular depois do implante do *stent* com o uso dessa prótese após a ATP e mostraram que a replicação celular na camada íntima estava maior em quantidade e tempo após o implante de *stent* do que após a ATP. O mesmo estudo mostrou que o nível de replicação celular voltou a ser baixo depois de quatro semanas do implante do *stent* e que o número de células na camada íntima diminuiu após este período.

Em estudos experimentais, Pasa ⁽²⁴⁾ (2001) avaliou, através de morfometria, o espessamento intimal presente na parede arterial de carótidas de suínos, submetidas ao implante de *stent*, concluindo que esse espessamento é maior do que aquele imposto pela injúria do vaso com o sistema introdutor apenas. Já Grüdtner ⁽⁷¹⁾ (2001) estudou o espessamento intimal adjacente ao implante de endoprótese recoberta por PTFE e não recoberta em aortas de suínos, sem evidenciar diferença estatisticamente significativa. Igualmente, Dutra ⁽⁷²⁾ (2001) estudou o espessamento intimal adjacente ao implante de endoprótese recoberta por *Dacron* e não recoberta também em aorta de suínos, sem evidenciar diferença estatisticamente significativa.

Muitos esforços têm sido feitos para reduzir a formação neo-intimal, com o uso de *stent* radioativo, o uso de imunossupressores no *stent* e de sementeira de células endoteliais. No futuro, essas técnicas podem aumentar o sucesso dos procedimentos endovasculares e ampliar o seu uso ^(2, 65).

OBJETIVO

Analisar, por meio da morfometria, o espessamento intimal presente na parede arterial ilíaca de suínos submetidos à angioplastia isoladamente e à angioplastia seguida do implante de *stent*, comparando os resultados descritos.

HIPÓTESE

A angioplastia da artéria ilíaca seguida do implante de uma prótese endoluminal ou *stent*, produz uma reação na parede arterial contígua ao seu implante, caracterizada por um espessamento intimal maior do que aquele imposto pela angioplastia isoladamente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ⁰¹ DE SANCTIS, J. T. **Percutaneous Interventions for Lower Extremity Peripheral Vascular Disease.** Am Fam Physician, 64: 1965-72, 2001.
- ⁰² INOUE, S.; KOYAMA, H.; MIYATA, T. et al. **Pathogenetic Heterogeneity of in-Stent Lesion Formation in Human Peripheral Arterial Disease.** J Vasc Surg, 35: 672-8, 2002.
- ⁰³ OURIEL, K. **Peripheral Arterial Disease.** Lancet, 358: 1257-64, 2001.
- ⁰⁴ KRAJCER, Z.; HOWELL, M. H. **Update on Endovascular Treatment of Peripheral Vascular Disease: New Tools, Techniques and Indications.** Tex Heart Inst J, 27 (4): 369-85, 2000.
- ⁰⁵ LIBBY, P.; TANAKA, H. **The Molecular Basis of Restenosis.** Prog Cardiovasc Dis, 40 (2): 97-106, 1997.

- ⁰⁶ LAMMER, J.; DAKE, M. D.; BLEYN, J. et al. **Peripheral Arterial Obstruction: Prospective Study of Treatment with a Transluminally Placed Self-Expanding Stent-Graft.** Radiology, 217: 95-104, 2000.
- ⁰⁷ PEREIRA, A. H.; GRUDTNER, M. A. **Angioplastia Transluminal Percutânea e Stents Endovasculares.** Versão Preliminar, 1-16, 2000.
- ⁰⁸ ROLLER, R. E.; NIMMRICHTER, V.; TRINKER, M. et al. **Oxidative Stress during Peripheral Angioplasty. Implication for Late Restenosis?** International Angiology, 20 (2): 131-5, 2001.
- ⁰⁹ FORSMAN, W. **Die Sondierung des Rechten Herzens.** Herzens Klin Wochenschr, 8: 2085-7, 1929.
- ¹⁰ STRANDNESS Jr., D. E.; EIDT, J. F. **Peripheral Vascular Disease.** Circulation, 102: IV-46-51, 2000.
- ¹¹ SELDINGER, S. I. **Catheter Replacement of the Needle in Percutaneous Arteriography: a New Technique.** Acta Radiol, 39: 368-76, 1953.
- ¹² SONES, F. M. J.; SHIREY, E. K.; PROUDFIT, W. L. et al. **Cine-Coronary Arteriography.** Circulation, 20: 773 (Abstract), 1959.
- ¹³ AMPLATZ, K. **Technics of Coronary Arteriography.** Circulation, 27: 101-7, 1963.

- ¹⁴ JUDKINS, M. P. **Selective Coronary Arteriography.** Radiology, 89: 815-24, 1967.
- ¹⁵ FOGARTY, T. J.; CRANLEY, J.; KRAUSE, R. et al. **A Method for Extraction of Arterial Emboli and Thrombi.** Surg Gynecol Obstet, 116: 241-4, 1963.
- ¹⁶ DOTTER, C. T.; JUDKINS, M. P. **Transluminal Treatment of Arteriosclerotic Obstruction: Description of a New Technic and a Preliminary Report of its Application.** Circulation, 3: 654-70, 1964.
- ¹⁷ KING III, S. B.; MEIER, B. **Interventional Treatment of Coronary Heart Disease and Peripheral Vascular Disease.** Circulation, 102: IV81-IV86, 2000.
- ¹⁸ HAJI-AGHAILI, M.; FOGARTY, T. J. **Balloon Angioplasty, Stentig and Role of Atherectomy.** Surg Clin North Am, 78 (4): 593-616, 1998.
- ¹⁹ GRUENTZIG, A. R.; HOPFF, H. **Perkutaene Rekanalisation Chronischer Arterieller Verschluss mit Einem Neuem Dilatationkatheter.** Dtsch Med Wochenschr, 99: 2502-5, 1974.
- ²⁰ DOTTER, C. T. **Transluminally-Placed Coilspring Endarterial Tube Grafts: Long-Term Patency in Canine Popliteal Artery.** Invest Radiol, 4: 329-32, 1969.
- ²¹ CRAGG, A. H.; DAKE, M. D. **Treatment of Peripheral Vascular Disease with Stent-Grafts.** Radiology, 205: 307-14, 1997.

- ²² CLEVELAND, T. J.; GAINES, P. **Stenting in Peripheral Vascular Disease**. *Hosp Med*, 60 (9): 630-2, 1999.
- ²³ YAMAMOTO, G. R. I. **Trombose Arterial Aguda Induzida Experimentalmente por Lesão Endotelial e Ativação da Coagulação Sangüínea: Efeito da Administração Crônica de L-Arginina**. Porto Alegre: UFRGS, 1998. Tese (Doutorado em Cardiologia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 1998.
- ²⁴ PASA, M. B. **Estudo Morfométrico do Espessamento intimal Secundário ao Implante de Stent em Artérias Carótidas de Suínos**. Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ²⁵ ANDERSON, T. J. **Assessment and Treatment of Endothelial Dysfunction in Humans**. *JACC*, 34 (3): 631-8, 1999.
- ²⁶ GRAY, B. H. **Endovascular Treatment of Peripheral Arterial Disease**. *JAOA*, 100 (10): S15-S20, 2000.
- ²⁷ SAITO, I.; FOLSOM, A. R.; BRANCATI, F. L. et al. **Nontraditional Risk Factors for Coronary Heart Disease Incidence among Persons with Diabetes: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study**. *Annals of Internal Medicine*, 133 (2): 81-91, 2000.

- ²⁸ MEHTA, J. L.; SALDEEN, T. G. P.; RAND, K. **Interactive Role of Infection, Inflammation and Traditional Risk Factors in Atherosclerosis and Coronary Artery Disease.** J Am Coll Cardiol, 31: 1217-25, 1998.
- ²⁹ LIBBY, P.; RIDKER, P. M.; MASERI, A. **Inflamation and Atherosclerosis.** Circulation, 105: 1135-43, 2002.
- ³⁰ HENRY, M.; KLENARIS, C.; AMOR, M. et al. **State of the Art: Which Stent for Which Lesion in Peripheral Interventions?** Tex Heart Inst J, 27 (2): 119-26, 2000.
- ³¹ TASC WORKING GROUP. **Management of Peripheral Arterial Disease (PAD). TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC).** J Vasc Surg (Suppl), 31 (nº 1, part 2): S1-S296, 2000.
- ³² BECKER, G. J.; KATZEN, B. T.; DAKE, M. D. **Noncoronary Angioplasty.** Radiology, 170: 921-40, 1989.
- ³³ WILSON, S. E.; WOLF, G. L.; CROSS, A. P. **Percutaneous Transluminal Angioplasty versus Operation for Peripheral Arteriosclerosis.** J Vasc Surg, 9: 1, 1989.
- ³⁴ JOHNSTON, K. W. **Iliac Arteries: Reanalysis of Results of Balloon Angioplasty.** Radiology, 186: 207-12, 1993.

- ³⁵ MURANDIN, G. S.; BOSCH, J. L.; STIJNEN, T. et al. **Balloon Dilation and Stent Implantation for Treatment of Femoropopliteal Arterial Disease: Meta-Analysis.** Radiology, 221 (1): 137-45, 2001.
- ³⁶ GOY, J. J.; EECKHOUT, E. **Intracoronary Stenting.** Lancet, 351: 1943-9, 1998.
- ³⁷ ROSANIO, S.; TOCCHI, M.; URETSKY, B. F. et al. **Use of Intraluminal Stents in the Treatment of Carotid, Renal and Peripheral Arterial Disease.** Am J Med Sci, 319 (2): 111-7, 2000.
- ³⁸ SMITH Jr., S. C.; DOVE, J. T.; JACOBS, A. K. et al. **ACC/AHA Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention (Revision of The 1993 PTCA Guidelines) – Executive Summary.** Circulation, 103: 3019-41, 2001.
- ³⁹ BECQUEMIN, J-P.; ALLAIRE, E.; CAVILLON, A. et al. **Conventional versus Endovascular Surgical Procedures: a No Choice Option.** Eur J Vasc Endovasc Surg, 10: 1-3, 1995.
- ⁴⁰ KAMPHUIS, A. G. A.; VAN ENGELEN, A. D.; TETTEROO, E. et al. **Impact of Different Hemodynamic Criteria for Stent Placement after Suboptimal Iliac Angioplasty. Dutch Iliac Stent Trial Group.** J Vasc Interv Radiol, 10 (6): 741-6, 1999.

- ⁴¹ MUKHERJEE, D.; YADAV, J. S. **Update on Peripheral Vascular Disease: from Smoking Cessation to Stenting.** Cleve Clin J Med, 68 (8): 723-33, 2001.
- ⁴² TERUCHKIN, M. M. **Análise da Fixação Proximal de Stents para Correção Endovascular do Aneurisma da Aorta Abdominal Infra-Renal em Cadáveres.** Porto Alegre: UFRGS, 2002. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2002.
- ⁴³ CARTER, A. J.; SCOTT, D.; LAIRD, J. R. et al. **Progressive Vascular Remodeling and Reduced Neointimal Formation after Placement of a Thermoelastic Self-Expanding Nitinol Stent in a Experimental Model.** Cathet Cardiovasc Diagn, 44: 193-201, 1998.
- ⁴⁴ PALMAZ, J. C.; LABORDE, J. C.; RIVERA, F. J. et al. **Stenting of the Iliac Arteries with the Palmaz Stent: Experience from a Multicenter Trial.** Cardiovasc Intervent Radiol, 15: 291-7, 1992.
- ⁴⁵ TETTEROO, E.; HAARING, C.; VAN DER GRAAF, Y. et al. **Intraarterial Pressure Gradients after Randomised Angioplasty and Stenting of Iliac Artery Lesions.** Dutch Iliac Stent Trial Study Goup. Cardiovasc Intervent Radiol, 19: 411-7, 1996.
- ⁴⁶ RICHTER, G. M.; ROEREN, T. NOELDEGE, G. et al. **Initial Long-Term Results of a Randomised 5-Year Study: Iliac Stent Implantation versus PTA.** VASA, 35 (suppl): 192-3, 1993.

- ⁴⁷ TETTEROO, E.; VAN DER GRAAF, Y.; BOSCH, J. L. et al. **Randomised Comparison of Primary Stent Placement versus Primary Angioplasty Followed by Selective Stent Placement in Patients with Iliac-Artery Oclusive Disease.** Dutch Iliac Stent Trial Study Goup. Lancet, 351 (9110): 1153-9, 1998.
- ⁴⁸ STRECKER, E. P.; HAGEN, B.; LIERMANN, D. et al. **Current Status of the Strecker Stent.** Cardiol Clin, 12: 673, 1994.
- ⁴⁹ VORWERK, D.; GUNTHER, R. W.; SCHURMANN, K. et al. **Primary Stent Placement for Chronic Iliac Artery Occlusions: Follow-up Results in 103 Patients.** Radiology, 194: 745-9, 1995.
- ⁵⁰ BOSCH, J. L.; HUNINK, M. G. M. **Metaanalysis of the Results of Percutaneous Transluminal Angioplasty and Stent Placement for Aotoiliac Oclusive Disease.** Radiology, 204: 87-96, 1997.
- ⁵¹ DYET, J. F.; GAINES, P. A.; NICHOLSON, A. A. et al. **Treatment of Chronic Iliac Artery Occlusions by Means of Percutaneous Endovascular Stent Placement.** J Vasc Intervent Radiol, 8: 349-53, 1997.
- ⁵² CEJNA, M.; ILLIASCH, H.; WALDENBERGER, P. et al. **PTA versus Palmaz Stent in Femoropopliteal Obstruction: a Prospective Randomized Trial – Long Term Results** (abstr). Radiology 209 (P): 492, 1998.

- ⁵³ GRIMM, J.; MÜLLER-HÜLSBECK, S.; JAHNKE, T. et al. **Randomized Study to Compare PTA Alone versus PTA with Palmaz Stent Placement for Femoropopliteal Lesions.** J Vasc Interv Radiol, 12: 935-41, 2001.
- ⁵⁴ ANDERSEN, H. R.; MAENG, M.; THORWEST, M. et al. **Remodeling Rather than Neointimal Formation Explains Luminal Narrowing after Deep Vessel Wall Injury: Insights from a Porcine Coronary (Re)Stenosis Model.** Circulation, 93 (9): 1716-24, 1996.
- ⁵⁵ SOUSA, J. E.; COSTA, M. A.; SOUSA, A. G. M. R. **What Is The Matter with Restenosis in 2002?** Circulation, 105 (25): 2932-3, 2002.
- ⁵⁶ ROLLER, R. E.; JANISCH, S.; KVAS, E. et al. **Smooth Muscle Cell Migration Promoting Activity of Plasma Predicts Restenosis in Patients with Peripheral Arterial Oclusive Disease Undergoing Angioplasty.** Thromb Haemost, 84: 1113-6, 2000.
- ⁵⁷ JOHNSON, G. J.; GRIGGS, T. R.; BADIMON, L. **The Utility of Animal Models in the Preclinical Study of Interventions to Prevent Human Coronary Artery Restenosis: Analysis and Recommendations. On Behalf of the Subcommittee On Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.** Thromb Haemost, 81 (5): 835-43, 1999.

- ⁵⁸ SCHWARTZ, R. S. **Pathophysiology of Restenosis: Interactions of Thrombosis, Hyperplasia, and/or Remodeling.** Am J Cardiol, 81 (7A): 14E-17E, 1998.
- ⁵⁹ FAXON, D. P.; CURRIER, J. W. **Prevention of Post-PTCA Restenosis.** Ann N Y Acad Sci, 748: 419-27, 1995.
- ⁶⁰ TORRES JR., L. G. N. **Expressão de Proliferação Celular e Citoquinas na Camada Média da Parede da Artéria Ilíaca como Resposta à Agressão por Balão: Estudo Experimental em Coelhos.** Porto Alegre: UFRGS, 2000. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.
- ⁶¹ KAKUTA, T.; CURRIER, J. W.; HAUNDENSCHILD, C. C. et al. **Compensatory Vessel Enlargement, Not Intimal Formation, Account for Restenosis after Angioplasty in The Hypercholesterolemic Rabbit Model.** Circulation, 89: 2809-15, 1994.
- ⁶² FROELICH, J. J.; ALFKE, H.; WILKE, A. et al. **Effects of Nitinol Strecker Stent Placement on Vascular Response in Normal and Stenotic Porcine Iliac Arteries.** J Vasc Interv Radiol, 10 (3): 329-38, 1999.
- ⁶³ CWIKIEL, W.; HARNEK, J.; ZOUCAS, E. et al. **Proliferative Response in Smooth Muscle Cells after Angioplasty or Insertion of Self-Expanding Stents.** Acta Radiologica, 38: 124-8, 1997.

- ⁶⁴ VAN BEUSEKOM, H. M. M.; VAN DER GIESSEN, W. J.; VAN SUYLEN, R. J. et al. **Histology after Stenting of Human Saphenous Vein By-Pass Grafts: Observations from Surgical Excised Grafts 3 to 320 Days after Stent Implantation.** J Am Coll Cardiol, 21: 45-54, 1993.
- ⁶⁵ COSTA, R. F. B.; FAGUNDES, D. J. **Modelos Experimentais de Hiperplasia Intimal: Efeitos da Radiação Ionizante.** Acta Cir Bras (serial online), 17 (3), 2002.
- ⁶⁶ CLOWES, A.W.; CLOWES, M. M.; FINGERIE, J. et al. **Regulation of Smooth Muscle Cell Growth in Injured Arteries.** J Cardiovasc Pharmacol, 14: S12-S15, 1989.
- ⁶⁷ ANDERSON, P. G.; BAJAJ, R. K.; BAXLEI, W. A. et al. **Vascular Pathology of Balloon-Expandable Flexible Coil Stent in Humans.** J AM Coll Cardiol, 19: 372-81, 1992.
- ⁶⁸ KEARNEY, M.; PIECZEK, A.; HALEY, L. et al. **Histopathology of in-Stent Restenosis in Patients with Peripheral Artery Disease.** Circulation, 95: 1998-2002, 1997.
- ⁶⁹ SCHWARTZ, R. S.; HOLMES JR., D. R.; TOPOL, E. J. **The Restenosis Paradigm Revisited: an Alternative Proposal for Cellular Mechanisms.** J Am Coll Cardiol, 20: 1284-93, 1992.

- ⁷⁰ KOLLUM, M.; KAISER, S.; KINSCHERF, R. **Apoptosis after Stent Implantation Compared with Balloon Angioplasty in Rabbits. Role of Macrophages.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 17 (11): 2383-8, 1997.
- ⁷¹ GRÜDTNER, M. A. **Análise Morfométrica da Parede Arterial após o Implante de *Stent* em Aorta abdominal de suínos – Estudo Comparativo entre *Stents* Metálicos Não Recobertos e Recobertos por PTFE.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ⁷² DUTRA, C. F. **Análise Morfométrica Digital na Parede Aórtica de Suínos após Implante de *Stents* Não Revestidos Versus Revestidos com Dacron.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

OBRAS CONSULTADAS

BRITO, C. J. **Cirurgia Vascular**. 1ª ed. Rio de Janeiro: Revinter, 2002

FURASTÉ, P. A. **Normas Técnicas para o Trabalho Científico**. 12ª ed. Porto Alegre: [s.ed.], 2003.

ROBBINS, S. L. **Patologia Estrutural e Funcional**. 6ª ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 2000.

RUTHERFORD, R. B. **Vascular Surgery**. 5ª ed. Denver: W. B. Saunders, 2000.

**ANÁLISE MORFOMÉTRICA DA REAÇÃO INTIMAL SECUNDÁRIA AO IMPLANTE
DE *STENT* EM ARTÉRIAS ILÍACAS SUBMETIDAS À ANGIOPLASTIA:
ESTUDO EXPERIMENTAL EM SUÍNOS.**

RESUMO

OBJETIVO: analisar, por meio da morfometria digital, o espessamento intimal presente na artéria ilíaca de suínos, submetidos à angioplastia isoladamente e à angioplastia seguida do implante de *stent*.

MATERIAIS E MÉTODOS: em dez suínos saudáveis, foi realizada a angioplastia de ambas as artérias ilíacas comuns (AIC) seguida do implante de um “Z” *stent* auto-expansível na AIC esquerda. Após quatro semanas, os animais foram sacrificados para a retirada de amostras de tecido arterial e preparo das lâminas histológicas de três grupos de peças de cada suíno divididas do seguinte modo: grupo 1, envolvendo o segmento arterial proximal do *stent*; grupo 2, envolvendo o segmento distal do *stent*; grupo 3, área da angioplastia da AIC direita. As imagens das lâminas foram digitalizadas e analisadas por programa de morfometria com cálculo da área luminal, área da camada íntima e área da camada média dos cortes histológicos. A análise estatística foi realizada através de média e desvio padrão das áreas em cada grupo, utilizando ANOVA, com teste *Post-Hoc* de *Tukey* e *LSD*. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado significativo.

RESULTADOS: na análise das médias das áreas obtidas, foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa quanto à camada íntima dos grupos 1 (5,41 mm²) e 2 (5,25 mm²), quando comparados ao grupo 3 (0,65 mm²), em relação à camada média dos grupos 1 (3,51 mm²) e 2 (3,70 mm²), quando comparados ao grupo 3 (5,59 mm²) e não se observou diferença significativa nas médias das áreas luminiais dos três grupos (grupo 1: 6,63 mm²; grupo 2: 5,25 mm²; grupo 3: 5,78 mm²).

CONCLUSÃO: a angioplastia da AIC do suíno, seguida do implante do *stent*, gerou um espessamento intimal maior do que aquele produzido apenas pela angioplastia; porém, a área da camada média apresentou-se diminuída nos grupos “angioplastia + *stent*”; a luz arterial não apresentou diferença entre estes grupos.

PALAVRAS-CHAVE: angioplastia, *stents*, reestenose, doença vascular periférica, estudo experimental.

INTRODUÇÃO

A doença arterial obstrutiva periférica das extremidades inferiores é uma importante causa de morbidade que afeta mais de 10 milhões de pessoas nos EUA (1).

A cirurgia de revascularização aberta ainda é a melhor alternativa de tratamento para a maior parte das doenças arteriais obstrutivas periféricas. Contudo, os procedimentos endovasculares, devido à sua baixa morbidade e crescente sucesso, têm assumido um papel cada vez mais relevante como tratamento primário ou complementar para a recanalização arterial (2-4).

O sucesso primário da angioplastia trans-luminal percutânea (ATP) é alto, mas um percentual dos pacientes a ela submetidos desenvolvem reestenose num período de seis a doze meses. Dentre as alternativas técnicas testadas, o uso dos *stents* mostrou-se eficaz no sentido de melhorar os índices de perviedade a médio e longo prazo, mas a reestenose ainda constitui uma limitação para a aplicação mais ampla destes dispositivos (3-6).

O presente estudo visa determinar pela morfometria digital o espessamento parietal produzido na área da angioplastia seguida do implante do *stent* e comparar estes achados em relação à simples angioplastia, assim como analisar a área luminal remanescente entre os grupos em modelo suíno.

MATERIAIS E MÉTODOS

Esse estudo experimental foi conduzido com dez suínos saudáveis de raça mista (Landrace x Large White), pesando aproximadamente 20 kg, após aprovação ética do Grupo de Pesquisa e Pós-graduação (GPPG) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre e apreciação da direção do Hospital Veterinário, ambos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e recebendo tratamento adequado às normas regidas pela Lei 6638 de 08/05/1979.

Foram utilizados para o experimento *stents* com desenho em “Z”, auto-expansíveis, com 3 cm de comprimento e diâmetro final de 5 mm, confeccionados com aço 316L, pelo Laboratório de Transformação Mecânica da Escola de Engenharia da UFRGS.

Os procedimentos cirúrgicos foram conduzidos sob anestesia geral inalatória por sistema aberto sem reinalação. Os animais foram submetidos a jejum pré-operatório de seis horas e medicados com midazolam 10 mg intramuscular e cefalotina 1 g intravenoso antes do procedimento. A indução anestésica realizou-se com tiopental sódico 2,5% intravenoso e os animais foram ventilados por máscara

com oxigênio e ar ambiente. A anestesia foi mantida com halotano e os animais receberam solução glico-fisiológica para repor perdas líquidas. O experimento foi dividido em duas fases.

FASE 1:

- abordagem da aorta abdominal infra-renal por laparotomia mediana, na metade inferior do abdômen, com coleta sangüínea venosa trans-operatória, para controle hematimétrico (hematócrito, hemoglobina e leucócitos) e sorológico (colesterol total, frações e triglicerídeos), além de heparinização sistêmica (100 UI/kg) dez minutos antes da manipulação arterial, clampeamento aórtico e aortotomia transversal;
- angioplastia da AIC direita e esquerda, em local não manipulado cirurgicamente, orientada por palpação direta, através de cateter balão de Fogarty 4F, distendido com 1,5 ml de ar por três períodos de 1 minuto, com 30 segundos de intervalo entre eles, sendo, então, liberado o *stent* na AIC esquerda no local submetido à angioplastia;
- aortorrafia direta e fechamento da cavidade abdominal;
- alojamento dos animais em duas baias com água corrente, onde foram alimentados, todos, com a mesma ração, balanceada para a idade.

FASE 2:

- após quatro semanas, com o mesmo protocolo pré-operatório e anestésico, nova laparotomia foi conduzida, também com coleta sangüínea venosa, realizando dissecação ampla da aorta e vasos ilíacos, retirando-se essa peça cirúrgica em bloco, após dose letal de sulfato de magnésio sob anestesia geral;

- a peça cirúrgica foi irrigada, sob pressão controlada, com soro fisiológico 0,9% e fixada em solução de formalina 10%.

Para a avaliação microscópica, foram seccionados dois segmentos arteriais de modo transversal, envolvendo as margens proximal (grupo 1) e distal (grupo 2) do *stent* da AIC esquerda, de 3 mm de comprimento, com a retirada delicada das suas hastes metálicas, além de um segmento da AIC direita de 3 mm (grupo 3), da área submetida à angioplastia. Esses três grupos de peças foram incluídos em blocos de parafina, submetidos a cortes histológicos de 4 µm de espessura para a lâmina histológica e corados pelas técnicas de Verhoeff e Hematoxilina e Eosina (HE).

As imagens dos cortes histológicos foram digitalizadas a partir da microscopia óptica convencional, com fototubo, câmera de circuito fechado colorida (Sony DXC 151[®] – Japão) e placa de conversão analógica digital *IMAGE PROPLUS CAPTURE KIT*[®] (Media Cybernetics – EUA), gerando arquivos de imagem de 640 x 480 pixels, 24 bits, em computador, com aumento microscópico de vinte vezes para análise morfométrica. Foram utilizados os programas de morfometria e análise de imagem *IMAGE PROPLUS*[®] – Versão 4.1 (Media Cybernetics – EUA) e *IMAGE*[®] (Scion Corporation – EUA). A planimetria das áreas do lúmen vascular, da camada íntima e da camada média arterial foi realizada de modo automatizado, sem a interferência do observador.

Em cada peça dos grupos, a área luminal foi obtida por medida direta da área delimitada pelo endotélio; já a da íntima, foi conseguida subtraindo-se a área

luminal da área delimitada pela lâmina elástica interna (LEI) e, por último, a área da camada média, subtraindo-se a área luminal e a área da íntima daquela delimitada pela lâmina elástica externa (LEE).

Os critérios de exclusão considerados foram o óbito do animal antes do prazo estabelecido para a coleta do tecido, as complicações cirúrgicas trans e pós-operatórias e a falha técnica no preparo e no processamento do tecido.

A análise dos dados foi realizada com o pacote estatístico *SPSS for Windows*[®] versão 8 (MICROSOFT - EUA), através de estatística descritiva, utilizando-se a média e o desvio padrão. Na análise do peso e dos valores hematimétricos e sorológicos foi usado o teste *t* de *Student* para amostras pareadas. Na análise morfométrica, foi utilizado Análise de Variância (ANOVA), para as variações entre os grupos, e teste de *Post-Hoc* de *Tukey* e *Least Significant Difference* (LSD), para as variações dentro os grupos. O nível de significância estatística considerado foi de 5% ($p \leq 0,05$).

RESULTADOS

Três animais foram excluídos do estudo por óbito após a fase 1. Os animais tiveram ganho de peso significativo entre as duas fases do experimento. Dentre as variáveis hematimétricas e sorológicas, apenas HDL e triglicerídeos tiveram distribuição não normal entre as duas fases do experimento. As variáveis de distribuição normal e a variável triglicerídeo não mostraram diferença significativa ao teste *t* de *Student*. Apenas o HDL teve diferença estatisticamente significativa.

A perviedade do *stent* e da área submetida à angioplastia foi avaliada diretamente pela presença de pulso arterial distal à manipulação durante a segunda fase do experimento. A avaliação macroscópica das peças evidenciava as áreas de angioplastia e implante do *stent*, o qual encontrava-se bem aderido à parede do vaso e recoberto por uma fina camada translúcida.

A avaliação morfométrica e a análise estatística foram conduzidas através das médias e dos desvios padrões das áreas luminal e intimal, bem como da camada média das peças analisadas, divididas em grupos (tabela 1):

- grupo 1: envolvendo o segmento arterial proximal do *stent* da AIC esquerda;

- grupo 2: envolvendo o segmento arterial distal do *stent* da AIC esquerda;
- grupo 3: envolvendo a área submetida à angioplastia da AIC direita.

Tabela 1

Descrição dos resultados da morfometria

| VARIÁVEL | MÉDIA (mm ²) | DP (mm ²) | 95% IC (mm ²) |
|---------------|-----------------------------|--------------------------|------------------------------|
| GRUPO 1 (n=7) | | | |
| A luminal | 6,63 | 2,95 | 3,89 – 9,36 |
| A íntima | 5,41 | 1,60 | 3,93 – 6,90 |
| A média | 3,51 | 1,57 | 2,05 – 4,96 |
| GRUPO 2 (n=7) | | | |
| A luminal | 5,25 | 3,52 | 1,99 – 8,50 |
| A íntima | 5,25 | 1,20 | 4,14 – 6,36 |
| A média | 3,70 | 1,10 | 2,68 – 4,72 |
| GRUPO 3 (n=7) | | | |
| A luminal | 5,78 | 2,24 | 3,70 – 7,86 |
| A íntima | 0,65 | 0,43 | 0,25 – 1,05 |
| A média | 5,59 | 2,03 | 3,71 – 7,47 |

Notação: n: número de animais por grupo; A: área; DP: desvio padrão; IC: intervalo de confiança.

Quando comparadas as áreas luminiais, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos (ANOVA).

Quando comparadas as áreas das camadas médias, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA, $p=0,05$). Dentre os grupos, houve diferença quando comparados os grupos 1 (média $3,51 \pm 1,57$ mm²) e 2 (média $3,70 \pm 1,10$ mm²) em relação ao grupo 3 (média $5,59 \pm 2,03$ mm²) (LSD, $p<0,05$).

Quando comparadas as áreas intimas, houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos (ANOVA, $p < 0,01$). Dentre os grupos, houve diferença quando comparados os grupos 1 (média $5,41 \pm 1,60 \text{ mm}^2$) e 2 (média $5,25 \pm 1,20 \text{ mm}^2$) em relação ao grupo 3 (média $0,65 \pm 0,43 \text{ mm}^2$) (Tukey, $p < 0,01$).

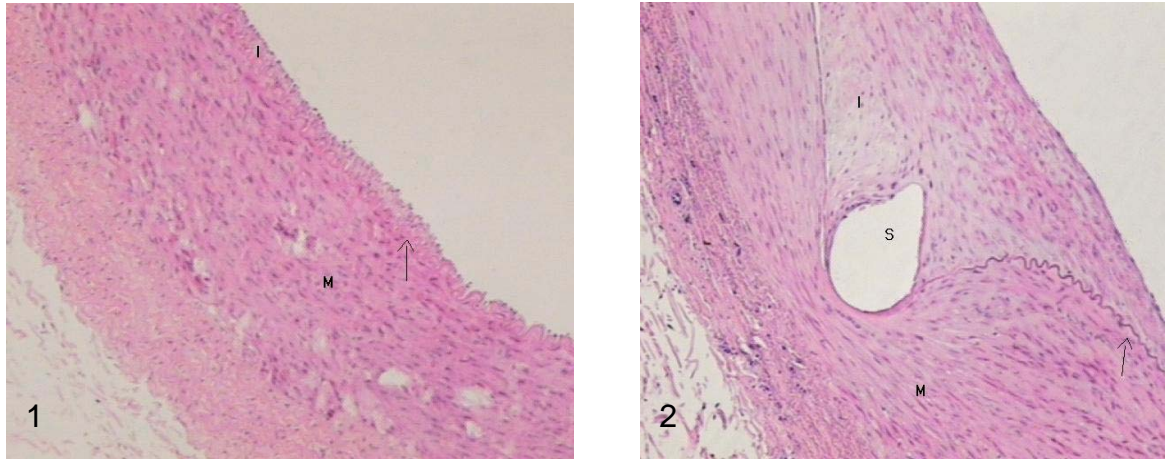


Figura 1: Fotomicrografia da AIC direita (parcial), 4 semanas após angioplastia. Coloração de HE. Magnificação original 100x. Em detalhe, discreto espessamento da camada íntima (**I**). **M**: camada média; **Seta**: LEI.

Figura 2: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), 4 semanas após angioplastia e implante do *stent*. Coloração de HE. Magnificação original 100x. Em detalhe, sítio de fragmento metálico do *stent* (**S**) envolto por espessamento da camada íntima (**I**). **M**: camada média; **Seta**: LEI.

DISCUSSÃO

No presente trabalho, ocorreram três óbitos por isquemia intestinal secundária a evisceração trans-operatória. Foi adaptada a técnica descrita por Turnipseed ⁽⁷⁾ (2001) de *Minimal Incision Aortic Surgery* (MIAS) para o experimento, com abordagem da aorta sem evisceração na tentativa de minimizar esse problema.

Os valores hematimétricos e sorológicos (perfil lipídico) não apresentaram variação estatisticamente significativa, com exceção do HDL, o que permite inferir que, provavelmente, não exerceram influência no desenvolvimento da lesão arterial, corroborando as observações de trabalhos anteriores em nosso meio ^(8, 9).

Em humanos, está bem estabelecido que o grau de lesão causada pelo *stent* e pela angioplastia correlaciona-se com a formação neo-intimal. Quanto mais o vaso é dilatado, maior a lesão produzida e mais neo-íntima é formada, mas o alargamento do vaso pode acomodar uma grande massa de neo-íntima sem estreitamento luminal. Somente se a perda luminal tardia, incluindo formação neo-intimal e remodelamento vascular, exceder o ganho luminal agudo ter-se-á

desenvolvido uma lesão estenótica. Esse fenômeno também tem sido observado nas artérias periféricas em estudos experimentais utilizando modelos animais ⁽¹⁰⁾.

Vários artigos relatam experimentos em artérias ilíacas de coelhos para estudos de lesão vascular e desenvolvimento de desenho e estrutura de *stents* ⁽¹¹⁻¹³⁾. Entretanto, modelos animais de grande porte, como suínos, parecem refletir a patogênese da reestenose humana muito bem, com vantagens sobre os animais de pequeno porte ^(10, 14). Schwartz ^(15, 16) (1997, 1998), em estudo experimental, diz que as fases da formação neo-intimal podem ser bem determinadas em modelos suínos. Estas observações estão de acordo com o trabalho de Costa et al. ⁽¹⁷⁾ (2002), onde chamam a atenção para as similaridades do suíno na anatomia cardiovascular, na fisiologia e no sistema de coagulação com o ser humano.

A maior limitação dos modelos animais é a falta de doença da parede vascular preexistente, como a arteriosclerose em humanos ⁽¹⁰⁾. Parece, todavia, que os achados relacionados à hiperplasia intimal após implante de *stent* no animal de experimentação submetido à dieta aterogênica não diferem quando comparada a artéria normal à artéria com estenose induzida ⁽¹⁸⁾.

De Meyer et al. ⁽¹⁹⁾ (1997), em trabalho de revisão sobre modelos experimentais, descreveram que estudos baseados em lesão endotelial superficial, como os modelos de abrasão endotelial por balão, são úteis para analisar o espessamento intimal. Não há, entretanto, padrão ouro quanto ao tempo de insuflação do balão para a ATP de vasos arteriais periféricos ⁽²⁰⁾. Em nosso estudo,

o tempo de insuflação foi determinado em três períodos de 1 minuto, com intervalo de 30 segundos.

A obtenção dos cortes histológicos após quatro semanas parece ser suficiente para estudos de espessamento intimal. A resposta à lesão em modelo experimental leva à formação da neo-íntima hiperplásica em uma ou duas semanas, observando-se o desenvolvimento completo da hiperplasia intimal em 28 dias, a qual é semelhante à encontrada em seres humanos, em termos de histopatologia, tamanho e densidade celular ⁽¹⁷⁾. Verheye et al. ⁽²¹⁾ (1999), implantando *stents* em artérias ilíacas e carótidas de suínos para estudo histopatológico após um e seis meses, descreveram que a cobertura da parede vascular por células tipo endoteliais estava completa em um mês.

Em nosso meio, Torres Jr. ⁽²²⁾ (2000), em estudo experimental de injúria vascular em coelhos, concluiu que a angioplastia por balão produziu resposta na camada média da artéria, caracterizada por proliferação celular expressa pela detecção do antígeno nuclear de proliferação celular. Pasa ⁽⁸⁾ (2001) avaliou, através da morfometria, o espessamento intimal presente na parede arterial de carótidas de suínos submetidas ao implante de *stent*, concluindo que este é maior do que o imposto pela lesão do vaso contra-lateral pelo sistema introdutor. Grüdtner ⁽⁹⁾ (2001) estudou o espessamento intimal adjacente ao implante de endoprótese recoberta por PTFE e não recoberta, em aortas de suínos, sem evidenciar diferença estatisticamente significativa no espessamento intimal. Dutra ⁽²³⁾ (2001) estudou o espessamento intimal adjacente ao implante de endoprótese recoberta por *Dacron* e não recoberta, também em aorta de suínos, sem evidenciar, do mesmo modo,

diferença estatisticamente significativa no espessamento intimal. Em todos esses experimentos, o intervalo de quatro semanas foi utilizado para estudar as alterações da parede arterial.

Post et al. ⁽²⁴⁾ (1997), realizaram ATP ou implante de *stent* em artérias ilíacas ateroscleróticas de microsuínos, concluindo que a perda luminal após ATP comparada ao implante de *stent*, deve-se principalmente ao remodelamento geométrico no primeiro grupo e à hiperplasia intimal no segundo. Na prática clínica, entretanto, a inserção do *stent* no tratamento das lesões ateroscleróticas é precedida por angioplastia até mesmo quando são usados os *stents* auto-expansíveis, o que inicia o processo de remodelamento arterial ⁽⁵⁾. O verdadeiro impacto destes dois tipos de agressão à parede arterial ainda não está claro. Harnek et al. ⁽²⁵⁾ (2002) analisaram peças de artérias ilíacas de suínos oito semanas após ATP, ATP seguida do implante de *stent* de nitinol e inserção de *stent* de nitinol sem ATP prévia, concluindo que o implante dessa endoprótese sem ATP prévia causa menor hiperplasia intimal do que a ATP seguida do implante do *stent*. Esse experimento, entretanto, utilizou apenas três suínos em cada grupo, os dados não foram pareados e, dentre os resultados, descreveram que a área da camada média arterial após a ATP seguida do implante do *stent* foi maior do que após a angioplastia isolada, divergindo do encontrado no presente estudo.

No presente estudo, a área da camada média arterial foi menor nos grupos “angioplastia + *stent*” (1 e 2), quando comparados ao grupo “angioplastia” (3), sendo a diferença estatisticamente significativa. Estes achados estão em concordância com o estudo anterior de Cwikiel et al. ⁽²⁶⁾ (1997) que, em experimento

com suínos comparando ATP ou inserção de *stent* em artérias ilíacas, mostraram que o número de células musculares lisas proliferativas na camada média é significativamente menor após a inserção do *stent*, quando comparado à ATP. A crítica a este trabalho se relaciona ao implante do *stent* sem angioplastia prévia, o que não mimetiza as situações clínicas rotineiras onde se implanta o *stent* após a ATP do local. Além disso, os autores estudaram as peças 24 horas após o procedimento comprometendo a observação completa do processo proliferativo.

Dados recentes em humanos indicam que o remodelamento geométrico tem um papel importante na reestenose após ATP. Grimm et al. ⁽²⁷⁾ (2001), em ensaio clínico randomizado em humanos, compararam a ATP com a ATP seguida do implante de *stent* em lesões estenóticas femoro-poplíteas de mesmo grau e encontraram maior grau de estenose residual no primeiro grupo, provavelmente porque a força radial do *stent* preveniu o remodelamento elástico. Entretanto, ao longo do tempo, esse benefício foi mascarado pela perda luminal por hiperplasia intimal, apresentando ambos os grupos taxas de perviedade semelhantes. Essas observações corroboram os achados do presente estudo, onde foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa na área da camada íntima arterial, a qual foi maior nas regiões proximal e distal do *stent* (grupos 1 e 2), quando comparada à angioplastia isolada (grupo 3). Não se observou diferença significativa na área luminal provavelmente devido ao pequeno remodelamento geométrico ocorrido após o implante do *stent*.

A manutenção de uma luz arterial adequada após o implante do dispositivo é de fundamental importância para a perviedade do procedimento a

médio prazo. Estudos ulteriores com *stents* revestidos por tecido ou impregnados com medicações inibidoras do crescimento neo-intimal poderão controlar mais adequadamente o espessamento intimal que ocorre no corpo do *stent* a longo prazo.

CONCLUSÃO

Após a realização do presente estudo, concluiu-se que a angioplastia da artéria ilíaca do suíno, seguida da inserção de uma prótese endoluminal, ou *stent*, produz uma reação na parede arterial adjacente ao seu implante, caracterizada por um espessamento intimal maior do que aquele imposto pela angioplastia isoladamente. Entretanto, a área da camada média arterial apresentou-se diminuída nos grupos submetidos à angioplastia e implante do *stent*, em comparação à angioplastia simples. O espessamento intimal não foi suficiente para reduzir a área da luz das artérias estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ⁰¹ DE SANCTIS, J. T. **Percutaneous Interventions for Lower Extremity Peripheral Vascular Disease.** Am Fam Physician, 64: 1965-72, 2001.
- ⁰² PEREIRA, A. H.; GRUDTNER, M. A. **Angioplastia Transluminal Percutânea e Stents Endovasculares.** Versão Preliminar, 1-16, 2000.
- ⁰³ ROLLER, R. E.; NIMMRICHTER, V.; TRINKER, M. et al. **Oxidative Stress During Peripheral Angioplasty. Implication for Late Restenosis?** International Angiology, 20 (2): 131-5, 2001.
- ⁰⁴ INOUE, S.; KOYAMA, H.; MIYATA, T. et al. **Pathogenetic Heterogeneity of in-Stent Lesion Formation in Human Peripheral Arterial Disease.** J Vasc Surg, 35: 672-8, 2002.
- ⁰⁵ GOY, J. J.; EECKHOUT, E. **Intracoronary Stenting.** Lancet, 351: 1943-9, 1998.

- ⁰⁶ ROLLER, R. E.; JANISCH, S.; KVAS, E. et al. **Smooth Muscle Cell Migration Promoting Activity of Plasma Predicts Restenosis in Patients with Peripheral Arterial Oclusive Disease Undergoing Angioplasty.** *Thromb Haemost*, 84: 1113-6, 2000.
- ⁰⁷ TURNIPSEED, W. D.; CARR, S. C.; TEFERA, G. et al. **Minimal Incision Aortic Surgery.** *J Vasc Surg*, 34: 47-53, 2001.
- ⁰⁸ PASA, M. B. **Estudo Morfométrico do Espessamento intimal Secundário ao Implante de *Stent* em Artérias Carótidas de Suínos.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ⁰⁹ GRÜDTNER, M. A. **Análise Morfométrica da Parede Arterial após o Implante de *Stent* em Aorta Abdominal de Suínos – Estudo Comparativo entre *Stents* Metálicos Não Recobertos e Recobertos por PTFE.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ¹⁰ ANDERSEN, H. R.; MAENG, M.; THORWEST, M. et al. **Remodeling Rather than Neointimal Formation Explains Luminal Narrowing after Deep Vessel Wall Injury: Insights from a Porcine Coronary (Re)Stenosis Model.** *Circulation*, 93 (9): 1716-24, 1996.

- ¹¹ ROGERS, C.; KARNOVSKY, M. J.; EDELMAN, E. R. **Inhibition of Experimental Neointimal Hyperplasia and Thrombosis Depends on the Type of Vascular Injury and the Site of Drug Administration.** *Circulation*, 88 (3): 1215-21, 1993.
- ¹² ROGERS, C.; EDELMAN, E. R. **Endovascular Stent Design Dictates Experimental Restenosis and Thrombosis.** *Circulation*, 91 (12): 2995-3001, 1995.
- ¹³ EDELMAN, E. R.; ROGERS, C. **Pathobiologic Responses to Stenting.** *Am J Cardiol*, 81 (7A): 4E-6E, 1998.
- ¹⁴ JOHNSON, G. J.; GRIGGS, T. R.; BADIMON, L. **The Utility of Animal Models in the Preclinical Study of Interventions to Prevent Human Coronary Artery Restenosis: Analysis and Recommendations. On Behalf of the Subcommittee On Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.** *Thromb Haemost*, 81 (5): 835-43, 1999.
- ¹⁵ SCHWARTZ, R. S. **The Vessel Wall Reaction in Restenosis.** *Semin Interv Cardiol*, 2 (2): 83-8, 1997.
- ¹⁶ SCHWARTZ, R. S. **Pathophysiology of Restenosis: Interaction of Thrombosis, Hyperplasia and/or Remodeling.** *Am J Cardiol*, 81 (7A): 14E-17E, 1998.

- ¹⁷ COSTA, R. F. B.; FAGUNDES, D. J. **Modelos Experimentais de Hiperplasia Intimal: Efeitos da Radiação Ionizante.** Acta Cir Bras (serial online), 17 (3), 2002.
- ¹⁸ FROELICH. J. J.; ALFKE, H.; WILKE, A. et al. **Effects of Nitinol Strecker Stent Placement on Vascular Response in Normal and Stenotic Porcine Iliac Arteries.** J Vasc Interv Radiol, 10 (3): 329-38, 1999.
- ¹⁹ DE MEIER, G. R.; BULT, H. **Mechanisms of Neointima Formation: Lessons from Experimental Models.** Vasc Med, 2 (3): 179-89, 1997.
- ²⁰ ZORGER, N.; MANKE, C.; LENHART, M. et al. **Peripheral Arterial Balloon Angioplasty: Effect of Short versus Long Balloon Inflation Times on the Morfologic Results.** J Vasc Interv Radiol, 13 (4): 355-9, 2002.
- ²¹ VERHEYE, S.; SALAME, M. Y.; ROBINSON, K.A. et al. **Short- and Long-Term Histopathologic Evaluation of Stenting Using a Self-Expanding Nitinol Stent in Pig Carotid and Iliac Arteries.** Cathet Cardiovasc Intervent, 48: 316-23, 1999.
- ²² TORRES JR., L. G. N. **Expressão de Proliferação Celular e Citoquinas na Camada Média da Parede da Artéria Ilíaca como Resposta à Agressão por Balão: Estudo Experimental em Coelhos.** Porto Alegre: UFRGS, 2000.
Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

- ²³ DUTRA, C. F. **Análise Morfométrica Digital na Parede Aórtica de Suínos após Implante de Stents Não Revestidos versus Revestidos com Dacron.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ²⁴ POST, M. J.; DE SMET, B. J.; VAN DER HELM, Y. et al. **Arterial Remodeling after Balloon Angioplasty or Stenting in an Atherosclerotic Experimental Model.** *Circulation*, 96 (3): 996-1003, 1997.
- ²⁵ HARNEK, J.; ZOUCAS, E.; STENRAM, U. et al. **Insertion of Self-Expandable Nitinol Stents Without Previous Balloon Angioplasty Reduces Restenosis Compared with PTA Prior to Stenting.** *Cardiovasc Intervent Radiol*, 25 (5): 430-6, 2002.
- ²⁶ CWIKIEL, W.; HARNEK, J.; ZOUCAS, E. et al. **Proliferative Response in Smooth Muscle Cells after Angioplasty or Insertion of Self-Expanding Stents.** *Acta Radiologica*, 38: 124-8, 1997.
- ²⁷ GRIMM, J.; MÜLLER-HÜLSBECK, S.; JAHNKE, T. et al. **Randomized Study to Compare PTA Alone versus PTA with Palmaz Stent Placement for Femoropopliteal Lesions.** *J Vasc Interv Radiol*, 12: 935-41, 2001.

**MORPHOMETRIC ANALYSIS OF THE INTIMAL REACTION AFTER
IMPLANTATION OF STENTS IN ILIAC ARTERIES SUBMITTED TO
ANGIOPLASTY: AN EXPERIMENTAL STUDY IN PIGS.**

ABSTRACT

PURPOSE: to compare through digital morphometry, the intimal thickening of the iliac arteries in pigs, submitted to isolated angioplasty and angioplasty followed by stent implantation.

MATERIAL AND METHODS: the angioplasty was performed in 10 healthy pigs in both common iliac arteries (CIA), followed by a self-expanding stainless steel “Z” stent implantation in the left CIA. After four weeks, the animals were sacrificed and the aorto-iliac segment was dissected free of surrounding structures. Histologic slices were divided in three groups: left CIA in the area of the proximal implantation site of the stent (group 1), left CIA including the distal implantation site of the stent (group 2) and the region of angioplasty in the right CIA (group 3). The histological slices were digitalized to be analysed by morphometry with calculation of the luminal, intimal and media layers areas. Descriptive statistics analysis was performed through average and standard deviation of areas on each group, using ANOVA, with Tukey and LSD Post-Hoc tests. The value of $p \leq 0.05$ were considered significant.

RESULTS: A significant statistic difference was observed when the median area of intimal layer of the groups 1 (5.41 mm²) and 2 (5.25 mm²) were compared with group 3 (0.65 mm²) and in the media layer area of the groups 1 (3.51 mm²) and 2 (3.70 mm²) when compared with group 3 (5.59 mm²). No difference was observed in luminal areas among the three groups (group 1: 6.63 mm², group 2: 5.25 mm² and group 3: 5.78 mm²).

CONCLUSION: angioplasty followed by stent insertion produces an intimal thickening bigger than that observed after simple angioplasty; however, the area of the media layer is smaller in the “angioplasty plus stent” groups; there is no significant change in the luminal area among the three groups.

KEY-WORDS: angioplasty, stents, restenosis, peripheral vascular disease, experimental.

INTRODUCTION

Peripheral obstructive disease of the lower extremities is an important cause of morbidity that affects more than 10 million people in the USA ⁽¹⁾.

Open revascularization surgery is still the best choice in the management of most of the peripheral obstructive arterial disease, although endovascular procedures, due to the low morbidity and improving success rate, is playing a prominent part in primary or complementary treatment of arterial disease ⁽²⁻⁴⁾.

The initial success of percutaneous transluminal angioplasty (PTA) is relative high but a percentage of the patients submitted to this procedure subsequently develop restenose in periods of six to twelve months. Amongst the alternative techniques tested, the use of stents has been found as an effective mean to improve patency over the medium and long term. Unfortunately restenosis again still limits the wider application of these devices ⁽³⁻⁶⁾.

This study proposes, by use of a digital morphometric system, to measure the parietal thickening after angioplasty and to compare it with the combination of

angioplasty plus insertion of a self-expanding stainless steel stent in the pig CIA. In addition, the luminal area between groups was measured to determine if a residual stenosis remained.

MATERIAL AND METHODS

This study was conducted using ten healthy Landrace x Large White pigs weighing approximately 20 kg each, with the previous ethical approval from Research and Post Graduation Group (GPPG) of the *Hospital de Clínicas* (Federal University of *Rio Grande do Sul* - UFRGS) in Brazil, in addition to a review by the Veterinary Hospital and under adequate treatment according to the Law 6638 (Brazil, 08/05/1979) .

For the experiments, “Z” shaped, auto-expandable stents made of 316L stainless steel, 3 cm long capable of expanding to a diameter of 5 mm were used. The Mechanical Transformation Laboratory of the UFRGS, University’s Engineering School, has manufactured all the devices.

The surgical procedures were performed under inhalant general anesthesia in an open system without reinhalation. The animals were not fed for six hours beforehand and were medicated with an intramuscular injection of midazolam 10 mg and an intravenous injection of cefalotina 1 g before the procedure. An intravenous solution of 2.5% sodic thiopental was used for anesthetic induction and

the animals were ventilated with oxygen and environmental air. Anesthesia was maintained with halothane and liquids were replaced by a glico-physiological solution. The experiment was divided into two phases.

PHASE 1:

- the infrarenal abdominal aorta was minimally dissected by laparotomy in the lower half of the abdomen. During the operation venous blood samples were collected for blood hematocrit, hemoglobin, leukocytes and serological tests (total cholesterol, fractions and triglycerids) and a full heparinization (100 UI/kg) was performed 10 minutes before the arterial manipulation;
- angioplasty of the right and left CIA was performed in sites not manipulated surgically. A 4F Fogarty catheter balloon was inflated with 1,5 ml of air for three periods of 1 minute at intervals of 30 seconds and a stent was implanted in the area of previous angioplasty in the left CIA;
- direct aortic suture repair and closure of the abdominal wall in layers;
- the animals were lodged in two stalls with flowing water and fed with the same ration.

PHASE 2:

- after four weeks, using the same pre-operative and anesthetic procedures of phase 1, new blood samples were taken and a laparotomy with ample dissection of the aorta and iliac vessels was performed. The surgical specimen containing the infrarenal abdominal aorta and the iliac arteries was removed in one block after a lethal dose of sulphate of magnesium had been administered under a general anesthesia;

- The surgical specimen was irrigated, under controlled pressure, with a NaCl 0.9% solution and fixed in a formalin solution at 10%.

For the microscopic evaluation, two arterial segments 3 mm in length were transversally split at the proximal (group 1) and distal (group 2) margins of the left CIA stent, as well as a 3 mm segment of the right CIA (group 3) from the area where the angioplasty had been performed. These three groups of specimens were fixed in paraffin blocks and sliced into 4 μm thick for the histological slices and stained with the Hematoxylin and Eosin (HE) and Verhoeff techniques.

The images of the histological slices were digitalized using a conventional optical microscope with phototube, a closed circuit colour camera (Sony DXC 151[®] – Japan) and an IMAGE PROPLUS CAPTURE KIT[®] (Media Cybernetics – USA), analogue-to-digital conversion board. This apparatus generated computer image files of 640 x 480 pixels, 24 bits, with twenty times microscopic amplification for the morphometric analysis which was carried out with the IMAGE PROPLUS[®] Version 4.1 (Media Cybernetics – USA) and IMAGE[®] (Scion Corporation – USA) software. The planimetry of the vascular lumen area, of the intimal layer area and the media layer area was performed automatically, without interference by the observer.

In each component of the group, the luminal area was obtained by direct measurement of the area delimited by the endothelium, while the intimal area was calculated by subtracting the luminal area from that delimited by the internal elastic lamina (IEL) and, finally, the area of the media layer by subtracting the luminal and the intimal areas from the area delimited by the external elastic lamina (EEL).

The exclusion criteria considered were animal death before the moment established for tissue collection, surgical complications either during or after the operation and technical failures in the preparation or processing of the tissues.

The data analysis was performed using the descriptive statistical method of the software statistical packet SPSS for Windows[®] version 8 (MICROSOFT[®] - USA), using the average and standard deviations. To analyse the weights and the haematimetical and serological values, the Student *t* test was utilised on paired samples, while the morphological analysis results were obtained by the Analysis of Variance (ANOVA) method for the variations among the groups, and by Tukey and Least Significant Difference (LSD) Post-Hoc tests for the variations within the groups. A value of 5% ($p \leq 0.05$) was considered statistically significant.

RESULTS

Three animals died and were excluded from the study after phase 1. During the two phases of the experiment the animals gained significant weight. Regarding the hematimetric and serological variants, only the HDL and triglycerids showed abnormal distribution between the two phases of the experiment. The variants in normal distribution and the triglycerid were not of statistical importance by the *t* test. Only the HDL had a significant statistical difference.

The patency of the stent and the angioplasty area was analysed directly by the presence of the distal pulse for manipulation during the second phase of the experiment. The macroscopic evaluation of the specimens demonstrated that the stent was firmly attached to the aortic wall and was covered by a thin, translucent coverage.

The morphometric and statistical analysis was made using the average and standard deviations of the media layer, intimal and luminal areas of the samples analysed, divided into groups as follows (Table 1):

- group 1: those concerning the proximal segment of the stent of the left CIA;

- group 2: those concerning the distal segment of the stent of the left CIA;
- group 3: those concerning the area submitted to angioplasty of the right CIA.

Table 1

Tabulation of the morphological results

| VARIABLE | AVERAGE (mm ²) | SD (mm ²) | 95% CI (mm ²) |
|---------------|-------------------------------|--------------------------|------------------------------|
| GROUP 1 (n=7) | | | |
| Luminal area | 6.63 | 2.95 | 3.89 – 9.36 |
| Intimal area | 5.41 | 1.60 | 3.93 – 6.90 |
| Media area | 3.51 | 1.57 | 2.05 – 4.96 |
| GROUP 2 (n=7) | | | |
| Luminal area | 5.25 | 3.52 | 1.99 – 8.50 |
| Intimal area | 5.25 | 1.20 | 4.14 – 6.36 |
| Media area | 3.70 | 1.10 | 2.68 – 4.72 |
| GROUP 3 (n=7) | | | |
| Luminal area | 5.78 | 2.24 | 3.70 – 7.86 |
| Intimal area | 0.65 | 0.43 | 0.25 – 1.05 |
| Media area | 5.59 | 2.03 | 3.71 – 7.47 |

Observation: n = number of animals per group; SD = standard deviation; CI = confidence interval.

Comparing the luminal areas, no statistical significant differences were found among the groups (ANOVA).

When the areas of the media layers were compared, there were statistically significant differences among the groups (ANOVA, $p=0.05$). Within the groups, differences were found among groups 1 (average 3.51 ± 1.57 mm²) and 2 (average 3.70 ± 1.10 mm²) when compared to group 3 (average 5.59 ± 2.03 mm²) (LSD, $p<0.05$).

Comparing the intimal layers, statistically significant differences were found among the groups (ANOVA, $p < 0.01$). Within the groups there were differences when group 1 (median $5.41 \pm 1.60 \text{ mm}^2$) and 2 (median $5.25 \pm 1.20 \text{ mm}^2$) were compared to group 3 (median $0.65 \pm 0.43 \text{ mm}^2$) (Tukey, $p < 0.01$).

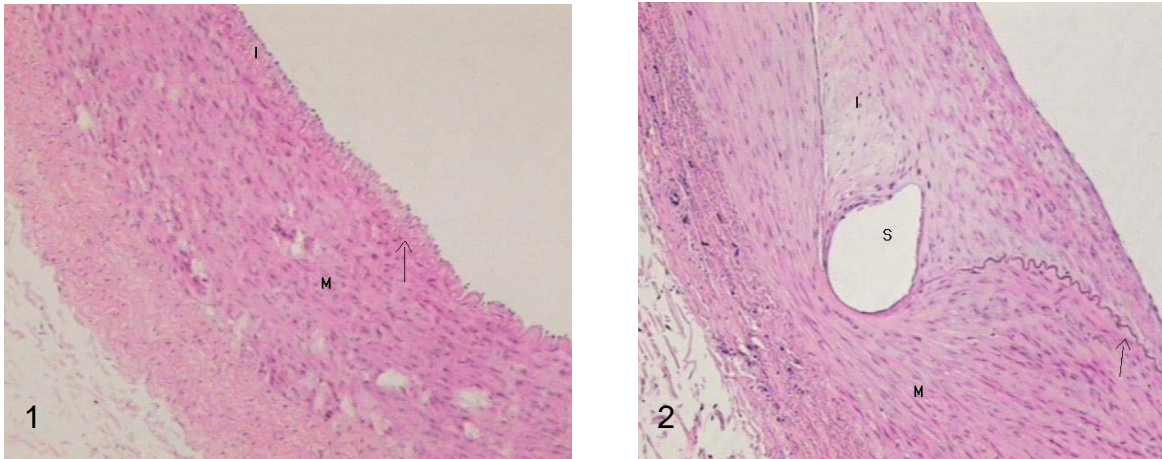


Figure 1: photomicrography of part of the right CIA four weeks after the angioplasty. HE staining. Original magnification of 100x. In detail, discrete thickening of the intimal layer (**I**). **M**: media layer, **Arrow**: IEL.

Figure 2: photomicrography of part of the left CIA four weeks after angioplasty and implantation of the stent. HE staining. Original magnification 100x. In detail, the location of a metallic fragment of the stent (**S**) covered by thickening of the intimal layer (**I**). **M**: media layer; **Arrow**: IEL.

DISCUSSION

In the present study, three deaths occurred due to bowel ischemia attributed to mesenteric traction during evisceration. The Minimal Incision Aortic Surgery (MIAS) technique, described by Turnipseed ⁽⁷⁾ (2001), was used for the experiment, and the approach to the aorta was performed with minimal viscera disturbance in an effort to minimise this problem.

The hematimetric and serological values (lipids profile) did not show any statistically significant variation, apart from the HDL, from which it may be inferred that these factors probably do not influence the development of the arterial lesion, which corroborates previous work in this speciality in Brazil ^(8, 9).

It is well established in humans that the degree of wall lesion caused by the stent and/or angioplasty is related to a variable degree of intimal thickening. The more the vessel is expanded, the greater the lesion produced and the more neointimal layer formed, but the enlargement of the vessel can accommodate a large amount of neointimal mass without luminal narrowing. Only if the consequent luminal loss, including the neointimal formation and vascular remodeling, exceeds the

immediate luminal gain will a stenotic lesion be produced. This phenomenon has also been observed in peripheral arteries during experimental studies with animals models⁽¹⁰⁾.

Several papers have described experiments on the iliac arteries of rabbits designed to study vascular lesions and the development of the design and structure of stents⁽¹¹⁻¹³⁾. However, larger animal models, such as pigs, seem to reflect the pathology of human restenosis very well, and more faithfully than the smaller animals^(10, 14). Schwartz^(15, 16) (1997, 1998) states that the phases of neointimal formation may be similar to humans in the pig model. These considerations agree with Costa et al⁽¹⁷⁾ (2002), which emphasises the similarities between pigs and humans as regards the cardiovascular anatomy, physiology and the coagulation system.

The major limitation of the animal models is the lack of pre-existing disease of the vascular wall, like arteriosclerosis in humans⁽¹⁰⁾. However, it seems that the findings related to the intimal hyperplasia after stent implantation in experimental animals maintained on an atherogenic diet were not different when compared a normal to a stenotic artery⁽¹⁸⁾.

In a revision work on experimental models, De Meyer et al.⁽¹⁹⁾ (1997) described how studies based on superficial endothelial lesions, like those produced by balloon abrasions, are useful for the analysis of the intimal thickness. There is not, however, any gold standard for the length of time balloons should be inflated during

PTA in peripheral arterial vessels ⁽²⁰⁾. In our study, the inflation time was set at three periods of one minute each, spaced at intervals of thirty seconds.

Obtaining histological slices after four weeks seems to be sufficient for studies of intimal thickening. The reaction to a lesion in the pig experimental model led to the formation of neointimal hyperplasia in one or two weeks, and the process is complete in twenty-eight days. In terms of histology, size and cellular density this is similar to what happens in humans ⁽¹⁷⁾. Verheye et al. ⁽²¹⁾ (1999), after implanting stents in the iliac and carotid arteries of pigs, conducted histological studies of one to six months, stating that within one month the vascular wall was covered by endothelial-type cells.

Previous works in our laboratory have studied the intimal thickening in a series of conditions. Torres Jr. ⁽²²⁾ (2000), studying experimentally vascular damage in rabbits, concluded that angioplasty by balloon produced a reaction in the media layer of the artery which was characterised by cellular proliferation expressed by the detection of the nuclear antigen of cellular proliferation. Pasa ⁽⁸⁾ (2001) evaluated, by morphometric means, the intimal thickness present in pig arterial carotid wall, which had been submitted to stent implantation and concluded that it was greater than that caused by the lesion of the opposite carotid submitted to damage by the introduction system. Grüdtner ⁽⁹⁾ (2001) studied the intimal thickening in pig aorta adjacent to stents with and without PTFE covering, and did not find statistically significant differences in the intimal thickness. Again in the pig aorta, Dutra ⁽²³⁾ (2001) studied the intimal thickening adjacent to stents covered or not with Dacron and, in the same way, did not find statistically significant differences in the intimal thickness. In all

these experiments, the time interval of four weeks was used to study the arterial wall alterations.

Post et al. ⁽²⁴⁾ performed PTA or stent implants in atherosclerotic iliac arteries in micropigs, concluding that the luminal loss after PTA, when compared to the stent implant, was due principally to geometric remodelling in the first group and to intimal hyperplasia in the second. In clinical practice however, the insertion of a stent in the treatment of arteriosclerotic lesions is frequently preceded by angioplasty and this initiates the arterial remodeling process ⁽⁵⁾. The real impact of the sum of these two types of aggression to the arterial wall is not clear. Harnek et al ⁽²⁵⁾ (2002) obtained iliac arterial wall samples of pigs after eight weeks from PTA alone, PTA followed by the implantation of nitinol stents, and the insertion of nitinol stents without prior PTA. They concluded that stent insertion without prior PTA caused less intimal hyperplasia than PTA followed by a stent implantation. This experiment, however, involved only three pigs in each group, the data was not paired, and in the results, they stated that the media arterial layer area after PTA followed by stent implant was bigger than that after angioplasty alone, a finding that we had not observed in the present study.

In the present study, the area of the media layer was smaller in the “angioplasty plus stent” (groups 1 and 2) than that of the “angioplasty” (group 3) and was statistically significant. These findings are in agreement with Cwikiel et al. ⁽²⁶⁾ where, in a pig model, PTA or stent insertion in iliac arteries were compared, it was observed that the number of proliferating smooth muscle cells in the media layer was significantly less after the stent insertion as compared to PTA. This work may be

criticised with respect to the implantation of the stent without prior angioplasty, because this does not reproduce the more usual clinical situation, where the stent is implanted after PTA. Furthermore these authors studied samples obtained only twenty-four hours after the procedure and therefore a full observation of the proliferative process was not possible.

Recent data from humans indicates that geometric remodeling plays an important role in restenosis after PTA. Grimm et al. ⁽²⁷⁾, in a random clinical test on humans, compared PTA with the PTA followed by stent implant in stenotic femoropopliteal lesions of the same degree and found a greater residual stenosis in the first group, probably because the radial force of the stent prevented elastic remodelling. However, as time passed, this benefit was masked by the luminal loss, probably induced by intimal hyperplasia, and both groups had similar rates of patency. This observations are in accordance with the present work, were a statistically significant difference was found in the area of the arterial intimal layer which was greater in the proximal and distal region of the stents (groups 1 and 2) than in the angioplasty (group 3). No significant differences however was observed in the luminal area probably because of the small amount of geometric remodelling which had occurred after the stent implant.

The maintenance of adequate arterial luminal area after the implant of these devices is of fundamental importance for the patency of the procedure in the medium term. Later studies with fabric-covered stents or with stents impregnated with medication to inhibit the neointimal growth may, more adequately, control the intimal thickening that occurs in the body of the stent after longer periods.

CONCLUSION

From the present study it is concluded that angioplasty of the iliac artery in pigs, followed by the insertion of an endoluminal prosthesis, or stent, produces a reaction in the arterial wall near the implant which is characterised by a greater intimal thickening than would be the case of an angioplasty alone. However, the area of the media layer is smaller in the “angioplasty plus stent” groups than that of the “angioplasty” group. The intimal thickening is not sufficient to reduce the luminal area in the arteries studied.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ⁰¹ DE SANCTIS, J. T. **Percutaneous Interventions for Lower Extremity Peripheral Vascular Disease.** Am Fam Physician, 64: 1965-72, 2001.
- ⁰² PEREIRA, A. H.; GRUDTNER, M. A. **Angioplastia Transluminal Percutânea e Stents Endovasculares.** Versão Preliminar, 1-16, 2000.
- ⁰³ ROLLER, R. E.; NIMMRICHTER, V.; TRINKER, M. et al. **Oxidative Stress During Peripheral Angioplasty. Implication for Late Restenosis?** International Angiology, 20 (2): 131-5, 2001.
- ⁰⁴ INOUE, S.; KOYAMA, H.; MIYATA, T. et al. **Pathogenetic Heterogeneity of in-Stent Lesion Formation in Human Peripheral Arterial Disease.** J Vasc Surg, 35: 672-8, 2002.
- ⁰⁵ GOY, J. J.; EECKHOUT, E. **Intracoronary Stenting.** Lancet, 351: 1943-9, 1998.

- ⁰⁶ ROLLER, R. E.; JANISCH, S.; KVAS, E. et al. **Smooth Muscle Cell Migration Promoting Activity of Plasma Predicts Restenosis in Patients with Peripheral Arterial Oclusive Disease Undergoing Angioplasty.** *Thromb Haemost*, 84: 1113-6, 2000.
- ⁰⁷ TURNIPSEED, W. D.; CARR, S. C.; TEFERA, G. et al. **Minimal Incision Aortic Surgery.** *J Vasc Surg*, 34: 47-53, 2001.
- ⁰⁸ PASA, M. B. **Estudo Morfométrico do Espessamento intimal Secundário ao Implante de *Stent* em Artérias Carótidas de Suínos.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ⁰⁹ GRÜDTNER, M. A. **Análise Morfométrica da Parede Arterial após o Implante de *Stent* em Aorta Abdominal de Suínos – Estudo Comparativo entre *Stents* Metálicos Não Recobertos e Recobertos por PTFE.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ¹⁰ ANDERSEN, H. R.; MAENG, M.; THORWEST, M. et al. **Remodeling Rather than Neointimal Formation Explains Luminal Narrowing after Deep Vessel Wall Injury: Insights from a Porcine Coronary (Re)Stenosis Model.** *Circulation*, 93 (9): 1716-24, 1996.

- ¹¹ ROGERS, C.; KARNOVSKY, M. J.; EDELMAN, E. R. **Inhibition of Experimental Neointimal Hyperplasia and Thrombosis Depends on the Type of Vascular Injury and the Site of Drug Administration.** *Circulation*, 88 (3): 1215-21, 1993.
- ¹² ROGERS, C.; EDELMAN, E. R. **Endovascular Stent Design Dictates Experimental Restenosis and Thrombosis.** *Circulation*, 91 (12): 2995-3001, 1995.
- ¹³ EDELMAN, E. R.; ROGERS, C. **Pathobiologic Responses to Stenting.** *Am J Cardiol*, 81 (7A): 4E-6E, 1998.
- ¹⁴ JOHNSON, G. J.; GRIGGS, T. R.; BADIMON, L. **The Utility of Animal Models in the Preclinical Study of Interventions to Prevent Human Coronary Artery Restenosis: Analysis and Recommendations. On Behalf of the Subcommittee On Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis.** *Thromb Haemost*, 81 (5): 835-43, 1999.
- ¹⁵ SCHWARTZ, R. S. **The Vessel Wall Reaction in Restenosis.** *Semin Interv Cardiol*, 2 (2): 83-8, 1997.
- ¹⁶ SCHWARTZ, R. S. **Pathophysiology of Restenosis: Interaction of Thrombosis, Hyperplasia and/or Remodeling.** *Am J Cardiol*, 81 (7A): 14E-17E, 1998.

- ¹⁷ COSTA, R. F. B.; FAGUNDES, D. J. **Modelos Experimentais de Hiperplasia Intimal: Efeitos da Radiação Ionizante.** Acta Cir Bras (serial online), 17 (3), 2002.
- ¹⁸ FROELICH. J. J.; ALFKE, H.; WILKE, A. et al. **Effects of Nitinol Strecker Stent Placement on Vascular Response in Normal and Stenotic Porcine Iliac Arteries.** J Vasc Interv Radiol, 10 (3): 329-38, 1999.
- ¹⁹ DE MEIER, G. R.; BULT, H. **Mechanisms of Neointima Formation: Lessons from Experimental Models.** Vasc Med, 2 (3): 179-89, 1997.
- ²⁰ ZORGER, N.; MANKE, C.; LENHART, M. et al. **Peripheral Arterial Balloon Angioplasty: Effect of Short versus Long Balloon Inflation Times on the Morfologic Results.** J Vasc Interv Radiol, 13 (4): 355-9, 2002.
- ²¹ VERHEYE, S.; SALAME, M. Y.; ROBINSON, K.A. et al. **Short- and Long-Term Histopathologic Evaluation of Stenting Using a Self-Expanding Nitinol Stent in Pig Carotid and Iliac Arteries.** Cathet Cardiovasc Intervent, 48: 316-23, 1999.
- ²² TORRES JR., L. G. N. **Expressão de Proliferação Celular e Citoquinas na Camada Média da Parede da Artéria Ilíaca como Resposta à Agressão por Balão: Estudo Experimental em Coelhos.** Porto Alegre: UFRGS, 2000.
Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2000.

- ²³ DUTRA, C. F. **Análise Morfométrica Digital na Parede Aórtica de Suínos após Implante de Stents Não Revestidos versus Revestidos com Dacron.** Porto Alegre: UFRGS, 2001. Dissertação (Mestrado em Cirurgia), Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.
- ²⁴ POST, M. J.; DE SMET, B. J.; VAN DER HELM, Y. et al. **Arterial Remodeling after Balloon Angioplasty or Stenting in an Atherosclerotic Experimental Model.** *Circulation*, 96 (3): 996-1003, 1997.
- ²⁵ HARNEK, J.; ZOUCAS, E.; STENRAM, U. et al. **Insertion of Self-Expandable Nitinol Stents Without Previous Balloon Angioplasty Reduces Restenosis Compared with PTA Prior to Stenting.** *Cardiovasc Intervent Radiol*, 25 (5): 430-6, 2002.
- ²⁶ CWIKIEL, W.; HARNEK, J.; ZOUCAS, E. et al. **Proliferative Response in Smooth Muscle Cells after Angioplasty or Insertion of Self-Expanding Stents.** *Acta Radiologica*, 38: 124-8, 1997.
- ²⁷ GRIMM, J.; MÜLLER-HÜLSBECK, S.; JAHNKE, T. et al. **Randomized Study to Compare PTA Alone versus PTA with Palmaz Stent Placement for Femoropopliteal Lesions.** *J Vasc Interv Radiol*, 12: 935-41, 2001.

ANEXO

Tabela 2

Descrição dos resultados individualizados da morfometria

| Animal nº | Peça (grupo) | A Luminal (mm ²) | A Cam. Íntima (mm ²) | A Cam. Média (mm ²) |
|-----------|--------------|------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| 1 | 1 | 7,235 | 3,977 | 3,541 |
| | 2 | 4,213 | 4,051 | 3,123 |
| | 3 | 3,547 | 0,029 | 7,895 |
| 3 | 1 | 5,936 | 5,945 | 3,023 |
| | 2 | 6,231 | 6,013 | 3,979 |
| | 3 | 5,032 | 0,014 | 4.320 |
| 4 | 1 | 8,564 | 4,421 | 4,321 |
| | 2 | 9,989 | 3,978 | 4,065 |
| | 3 | 4,235 | 0,802 | 6,984 |
| 6 | 1 | 3,780 | 7,220 | 3,200 |
| | 2 | 0,230 | 6,980 | 5,432 |
| | 3 | 3,580 | 0,890 | 6,542 |
| 7 | 1 | 8,989 | 3,021 | 1,954 |
| | 2 | 3,820 | 4,215 | 2,998 |
| | 3 | 9,201 | 0,987 | 2,351 |
| 9 | 1 | 10,032 | 6,789 | 6,541 |
| | 2 | 9,384 | 5,312 | 4,321 |
| | 3 | 7,863 | 0,895 | 4,021 |
| 10 | 1 | 1,880 | 6,541 | 2,004 |
| | 2 | 2,890 | 6,231 | 2,014 |
| | 3 | 7,012 | 0,954 | 7,036 |

Grupo 1: *stent* proximal; grupo 2: *stent* distal; grupo 3: angioplastia.
A Cam.: área da camada. Animais nº 2, 5, 8: óbitos.

Tabela 3

**Distribuição da alocação dos suínos quanto ao sexo
e ao peso nas duas fases do experimento**

| Animal nº | Sexo | Fase | Peso (kg) |
|-----------|-------|----------------|-----------|
| 1 | Fêmea | 1 ^a | 18,6 |
| | | 2 ^a | 30,0 |
| 2* | Fêmea | 1 ^a | 20,0 |
| | | 2 ^a | |
| 3 | Fêmea | 1 ^a | 21,0 |
| | | 2 ^a | 30,0 |
| 4 | Fêmea | 1 ^a | 24,2 |
| | | 2 ^a | 40,0 |
| 5* | Macho | 1 ^a | 22,0 |
| | | 2 ^a | |
| 6 | Macho | 1 ^a | 20,8 |
| | | 2 ^a | 42,0 |
| 7 | Macho | 1 ^a | 21,0 |
| | | 2 ^a | 32,0 |
| 8* | Macho | 1 ^a | 28,0 |
| | | 2 ^a | |
| 9 | Fêmea | 1 ^a | 20,0 |
| | | 2 ^a | 31,0 |
| 10 | Fêmea | 1 ^a | 22,0 |
| | | 2 ^a | 32,0 |

* Exclusão do estudo por óbito.

Tabela 4

Análise da variável peso

| Variável | Fase | Média (kg) | Desvio Padrão (kg) | p |
|----------|----------------|------------|--------------------|-------|
| Peso | 1 ^a | 21,085 | 1,732 | <0,01 |
| | 2 ^a | 33,857 | 4,981 | |

p calculado pelo teste *t* de *Student* para amostras pareadas.

Tabela 5

Valores do perfil lipídico obtidos nas duas fases do experimento

| Animal nº | Fase | Colesterol (mg%) | HDL (mg%) | Triglicerídeos (mg%) |
|-----------|----------------|------------------|-----------|----------------------|
| 1 | 1 ^a | 89 | 48 | 38 |
| | 2 ^a | 74 | 34 | 21 |
| 3 | 1 ^a | 89 | 45 | 27 |
| | 2 ^a | 99 | 40 | 86 |
| 4 | 1 ^a | 83 | 44 | 45 |
| | 2 ^a | 80 | 38 | 42 |
| 6 | 1 ^a | 78 | 46 | 22 |
| | 2 ^a | 99 | 38 | 138 |
| 7 | 1 ^a | 108 | 48 | 31 |
| | 2 ^a | 109 | 32 | 215 |
| 9 | 1 ^a | 49 | 33 | 38 |
| | 2 ^a | 50 | 23 | 23 |
| 10 | 1 ^a | 73 | 34 | 43 |
| | 2 ^a | 88 | 34 | 25 |

Animais nº 2, 5, 8: óbitos.

Tabela 6

Análise dos dados do perfil lipídico

| Variável | Fase | Média (mg%) | Desvio padrão (mg%) | p |
|----------------|----------------|-------------|---------------------|--------|
| Colesterol | 1 ^a | 81,285 | 18,062 | 0,384 |
| | 2 ^a | 85,571 | 19,773 | |
| HDL | 1 ^a | 42,571 | 6,373 | <0,01* |
| | 2 ^a | 34,142 | 5,669 | |
| Triglicerídeos | 1 ^a | 34,857 | 8,474 | 0,198 |
| | 2 ^a | 78,571 | 73,948 | |

p calculado pelo teste *t* de *Student* para amostras pareadas.

* significância estatística.

Tabela 7

Valores do eritrograma e leucometria obtidos nas duas fases do experimento

| Animal nº | Fase | Hematócrito (%) | Hemoglobina (g/dl) | Leucócitos (nº/mm ³) |
|-----------|----------------|-----------------|--------------------|----------------------------------|
| 1 | 1 ^a | 30,2 | 10,2 | 22.500 |
| | 2 ^a | 33,8 | 10,2 | 20.200 |
| 3 | 1 ^a | 33,8 | 10,7 | 24.000 |
| | 2 ^a | 31,7 | 10,3 | 16.900 |
| 4 | 1 ^a | 35,9 | 11,0 | 17.600 |
| | 2 ^a | 36,2 | 11,7 | 12.800 |
| 6 | 1 ^a | 33,3 | 10,3 | 19.900 |
| | 2 ^a | 27,1 | 8,5 | 15.800 |
| 7 | 1 ^a | 35,1 | 10,8 | 11.000 |
| | 2 ^a | 35,4 | 10,8 | 21.300 |
| 9 | 1 ^a | 34,3 | 11,0 | 24.700 |
| | 2 ^a | 35,1 | 11,1 | 17.800 |
| 10 | 1 ^a | 36,7 | 12,0 | 16.400 |
| | 2 ^a | 39,4 | 12,6 | 13.500 |

Animais 2, 5, 8: óbitos.

Tabela 8

Análise dos dados do eritograma e leucometria

| Variável | Fase | Média | Desvio Padrão | P |
|-----------------------------------------------|----------------|--------|---------------|-------|
| Hematócrito (%) | 1 ^a | 32,871 | 5,367 | 0,709 |
| | 2 ^a | 33,557 | 4,177 | |
| Hemoglobina (g/dl) | 1 ^a | 10,857 | 0,594 | 0,729 |
| | 2 ^a | 10,742 | 1,292 | |
| Leucócitos (n ^o /mm ³) | 1 ^a | 19,442 | 4,863 | 0,301 |
| | 2 ^a | 16,900 | 3,179 | |

p calculado pelo teste t de *Student* para amostras pareadas.

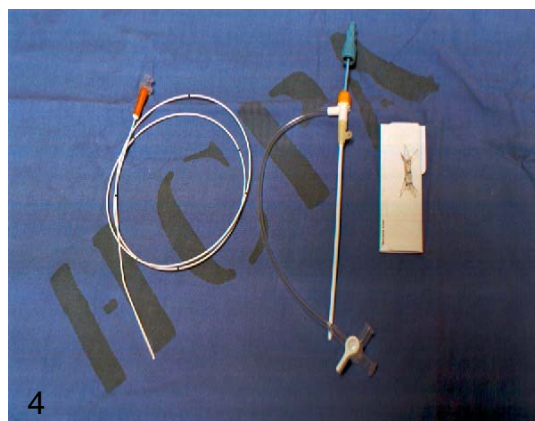


Figura 03: Suíno da raça mista Landrace x Large White.

Figura 04: Cateter Fogarty 4F, sistema introdutor e *stent* auto-expansível sobre embalagem de fio prolene 5.0.

Figura 05: Venóclise de veia marginal da orelha, após sedação, para indução anestésica, medicação e hidratação.

Figura 06: Sala de cirurgia do Hospital Veterinário da UFRGS.

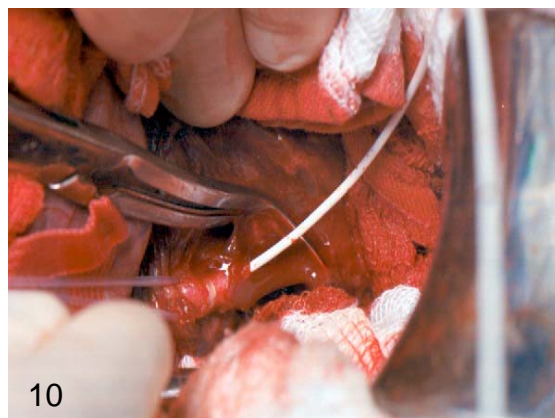
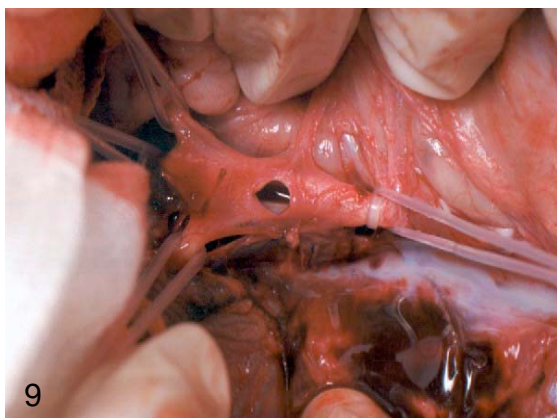
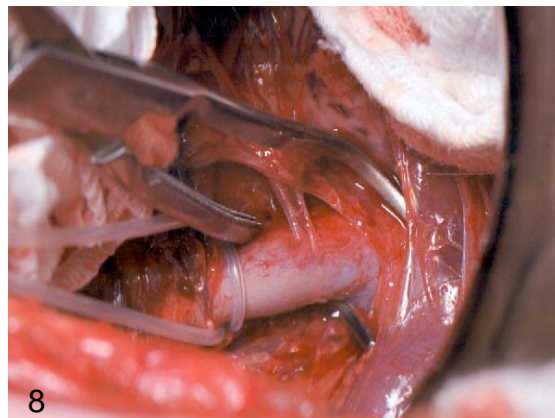
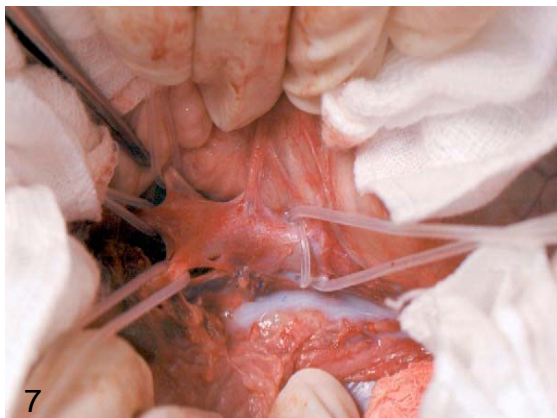


Figura 07: Laparotomia, abordagem e domínio da aorta infra-renal e seus ramos.

Figura 08: Clampeamento proximal da aorta infra-renal, após heparinização.

Figura 09: Aortotomia tansversa.

Figura 10: Angioplastia da AIC direita e esquerda, através da aortotomia.

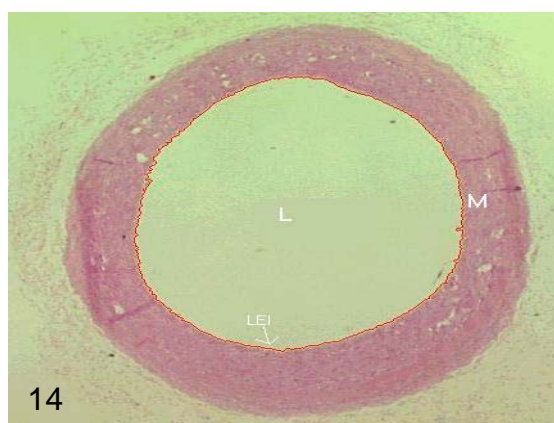
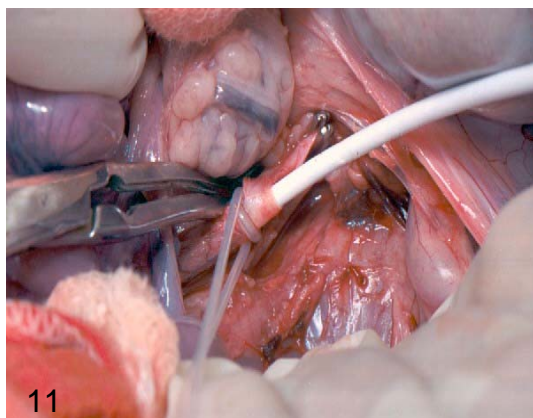
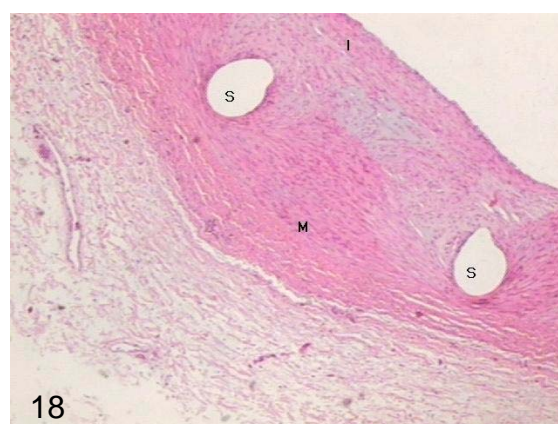
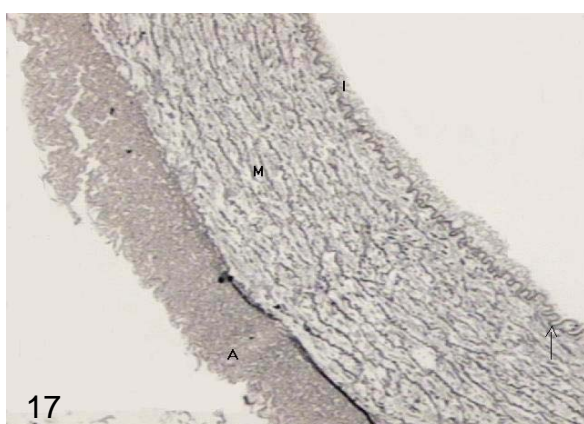
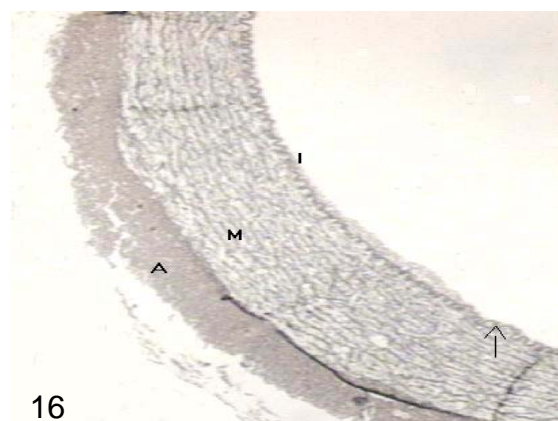
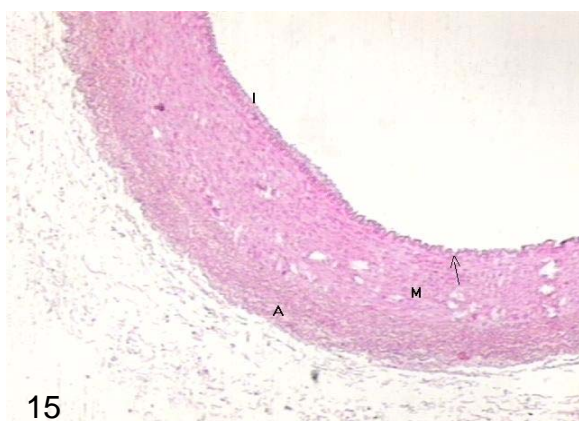


Figura 11: Sistema introdutor do *stent*, para colocação em AIC esquerda, após angioplastia, através da aortotomia.

Figura 12: Ressecção do sistema aorto-iliaco após 4 semanas. Preparo da peça com irrigação e formolização com pressão controlada.

Figura 13: Peça cirúrgica pronta para formolização. Observa-se área submetida ao implante do *stent* em AIC esquerda (superior).

Figura 14: Fotomicrografia da AIC direita, submetida a angioplastia. Coloração de HE. Magnificação original 12,5x. **L**: luz arterial; **M**: camada média; **seta**: LEI.



- Figura 15: Fotomicrografia da AIC direita (parcial), submetida a angioplastia. Coloração de HE. Magnificação original 25x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **A**: camada adventícia; **seta**: LEI.
- Figura 16: Fotomicrografia da AIC direita (parcial), submetida a angioplastia. Coloração de Verhoeff. Magnificação original 25x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **A**: camada adventícia; **seta**: LEI.
- Figura 17: Fotomicrografia da AIC direita (parcial), submetida a angioplastia. Coloração de Verhoeff. Magnificação original 100x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **A**: camada adventícia; **seta**: LEI.
- Figura 18: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), submetida a angioplastia e implante do *stent*. Coloração de HE. Magnificação original 25x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **S**: sítios de 2 fragmentos metálicos do *stent*.

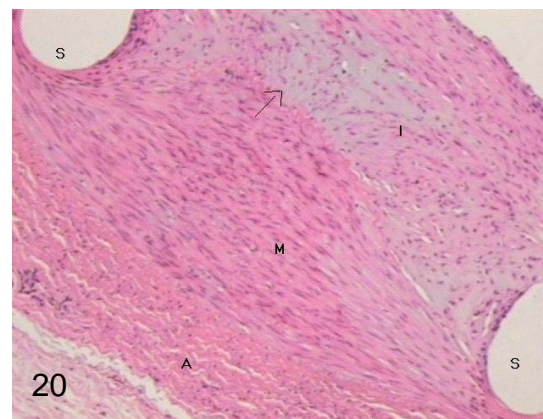


Figura 19: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), submetida a angioplastia e implante do *stent*. Coloração de HE. Magnificação original 25x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **A**: camada adventícia; **seta**: LEI; **S**: sítio de fragmento metálico do *stent*.

Figura 20: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), submetida a angioplastia e implante do *stent*. Coloração de HE. Magnificação original 100x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **A**: camada adventícia; **seta**: LEI; **S**: sítios de 2 fragmentos metálicos do *stent*.

Figura 21: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), submetida a angioplastia e implante do *stent*. Coloração de Verhoeff. Magnificação original 25x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **S**: sítios de 2 fragmentos metálicos do *stent*; **seta**: LEI.

Figura 22: Fotomicrografia da AIC esquerda (parcial), submetida a angioplastia e colocação do *stent*. Coloração de Verhoeff. Magnificação original 100x. **I**: camada íntima; **M**: camada média; **S**: sítio de fragmento metálico do *stent*; **seta**: LEI.