BRENO OLIVEIRA ALMEIDA

**Avaliação da função endotelial após o implante de stents
com revestimento cerâmico e baixas doses de sirolimus:
Estudo prospectivo, duplo-cego e randomizado**

Tese apresentada ao Instituto Dante Pazzanese
de Cardiologia, Entidade Associada da
Universidade de São Paulo para obtenção do
título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Medicina, Tecnologia
e Intervenção em Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Antônio Cunha
Abizaid

São Paulo

2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Preparada pela Biblioteca do Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia

©reprodução autorizada pelo autor

Almeida, Breno Oliveira

Avaliação da função endotelial após o implante de stents com revestimento cerâmico e baixas doses de sirolimus: Estudo prospectivo, duplo-cego e randomizado /Breno Oliveira Almeida.-- São Paulo, 2013.

Tese(doutorado)--Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia
Universidade de São Paulo

Área de Concentração: Medicina, Tecnologia e Intervenção
em Cardiologia

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Antônio Cunha Abizaid

Descritores: 1.DOENÇA DAS CORONÁRIAS 2. STENTS
FARMACOLÓGICOS 3. SIROLIMUS. 4. ENDOTÉLIO

USP/IDPC/Biblioteca/027/13

Dedicatória

Aos meus pais, Luiz e Maria Dutra, pelo imenso esforço que fizeram para colocar-nos no caminho do conhecimento. E eles são a quem recorro a todo momento, mesmo que em pensamento.

Aos meus irmãos, Ada, Luiz Henrique e Milena, pelo apoio incondicional e presença constante, me fizeram o compreender o sentido da amizade.

À minha esposa Adriana, meiga e forte, presente e prestativa. Em quem posso me apoiar sem receio e confiar irrestritamente todos os meus sonhos.

Aos meus filhos, Arthur e Isabella, que me fazem, ao olhar o mundo através dos seus olhos, acreditar que ainda podemos ser melhores pessoas.

Agradecimentos

Deve-se a um esforço coletivo a realização deste trabalho. Agradecimentos especiais se fazem necessários a:

- Prof. Dr. Alexandre da Cunha Abizaid, amigo correto e orientador exemplar, pela confiança depositada desde o primeiro momento.
- Prof. Dr. Marco Antônio Perin pela amizade e estímulo nesta longa convivência.
- Dr. José Ribamar da Costa Jr. incansável colaborador de todas as fases deste estudo
- Dr. Ricardo Costa de cuja competência foram frutos as mais delicadas análises aqui apresentadas.
- Dr. Fábio Sândoli Brito Jr., Dr. Dalmo Antônio Ribeiro Moreira e Dr. Ibraim Masciarelli Francisco Pinto cujas observações criteriosas, durante a qualificação, acrescentaram melhorias significantes a este trabalho.
- Ir. Monique Bourget e Ir. Rosane Ghedin pelo apoio imprescindível dado no Hospital Santa Marcelina.
- Dr. Bruno Laurenti Janella, Dr. André Spadaro e Dr. Jamil Cade pela ajuda na condução do estudo no Hospital Santa Marcelina
- Dr. Adriano Caixeta pelas despretensiosas e produtivas discussões informais.
- Srta. Mirella Lima pela seriedade e competência nas análises angiográficas infinitas.
- Sra. Juliana Castro pelo envolvimento imprescindível na organização deste estudo.

“Não sei o que possa parecer aos olhos do mundo, mas aos meus pareço apenas ter sido como um menino brincando à beira-mar, divertindo-me com o fato de encontrar de vez em quando um seixo mais liso ou uma concha mais bonita que o normal, enquanto o grande oceano da verdade permanece completamente por descobrir à minha frente.”

Isaac Newton

Normalização adotada

Esta tese está de acordo com as seguintes normas, em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Júlia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. 3^a ed. São Paulo: Divisão de Biblioteca e Documentação; 2011.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de Abreviaturas

Lista de Acrônimos

Lista de Símbolos

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Abstract

1 INTRODUÇÃO.....	1
2 HIPÓTESE.....	9
3 OBJETIVOS.....	11
3.1 Objetivo primário.....	12
3.1.1 Objetivos secundários.....	12
3.1.2 Desfechos angiográficos (Angiografia Coronária Quantitativa).....	12
3.1.3 Desfechos ultrassonográficos.....	12
3.1.4 Desfechos clínicos.....	13
4 MÉTODOS.....	14
4.1 Delineamento do estudo.....	15
4.2 Casuística.....	15
4.3 Critérios de inclusão.....	16
4.3.1 Clínicos.....	16
4.3.2 Angiográficos.....	16
4.4 Critérios de exclusão.....	17
4.4.1 Clínicos.....	17
4.4.2 Angiográficos.....	18
4.5 Critérios de interrupção.....	19
4.6 Dispositivo investigado.....	19
4.7 Avaliação pré-procedimento.....	22
4.8 Técnica de implante dos stents.....	23
4.9 Protocolo da avaliação angiográfica tardia.....	24
4.10 Análise angiográfica quantitativa.....	25
4.11 Teste de vasomotricidade.....	26

4.12 Análise angiográfica do teste de vasomotricidade	28
4.13 Protocolo da avaliação ultrassonográfica aos oito meses.....	30
4.14 Análise ultrassonográfica <i>off-line</i>	31
4.15 Definições clínicas	32
4.16 Análise estatística	33
4.17 Cálculo do tamanho da amostra	33
5 RESULTADOS.....	35
5.1 População do estudo	36
5.2 Características do procedimento	39
5.3 Reestudo angiográfico de oito meses.....	42
5.3.1 Achados ultrassonográficos	42
5.4 Desfechos clínicos	44
5.5 Teste de vasomotricidade.....	45
5.5.1 Dados hemodinâmicos.....	46
5.5.2 Resposta vasomotora coronariana	48
5.5.2.1 Resposta do grupo VestaSync.....	48
5.5.2.2 Resposta do grupo VestaCor.....	51
5.5.3 Correlação entre perda tardia e função endotelial	57
6 DISCUSSÃO.....	58
7 CONCLUSÕES.....	70
ANEXO	72
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	74

LISTA DE ABREVIATURAS

atm.	atmosfera(s)
ed.	edição
et al.	e outros
fig.	figura(s)
vs.	versus
ic	intracoronário
ppm	pulsos por minuto
freq	frequência

LISTA DE ACRÔNIMOS

DICOM	Digital Imaging and Communications in Medicine
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction

LISTA DE SÍMBOLOS

$>$	maior que
$<$	menor que
$\geq$	maior ou igual a
$\leq$	menor ou igual a
$=$	igual
$-$	menos
$\pm$	mais ou menos
α	alfa
β	beta
cm	centímetro
mm	milímetro
mm^2	milímetro quadrado
mm^3	milímetro cúbico
%	porcentual
μm	micra
mg/dL	miligramas / decilitro
g/dL	gramas / decilitro
UI	unidades internacionais

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Componentes principais do stent VestaSync®. (A) Microscopia eletrônica da cobertura de hidroxiapatita, (B) corte transversal da cobertura de hidroxiapatita, (C) plataforma metálica recoberta, e (D) corte transversal da cobertura de hidroxiapatita impregnada por sirolimus. (Adaptado da referência 37)	20
Figura 2 - Curva de eluição do sirolimus do stent VestaSync®. O processo de eluição está finalizado após 4 meses (adaptado da referência 35).	21
Figura 3 - Etapas da pesquisa de vasomotricidade com marcapasso. A mudança de estágio implica um aumento da frequência de estimulação em 20 pulsos por minuto. Após 2 minutos de estimulação na frequência máxima predita (150 ppm), a prova era suspensa.....	27
Figura 4 - Local de interesse para análise angiográfica da prova de vasomotricidade. As setas apontam para os 5mm proximais e distais ao stent no segmento.	28
Figura 5 - Local de interesse para análise angiográfica da prova de vasomotricidade. As setas apontam para os 5mm proximais e distais ao stent no segmento.	29
Figura 6 - Parâmetros avaliados na angiografia coronária quantitativa seriada no segmento do stent durante prova de vasomotricidade.	30
Figura 7 - Gráfico de distribuição das artérias tratadas segundo grupo de tratamento.....	39
Figura 8 - Distribuição porcentual da obstrução neointimal de acordo com o stent utilizado. Observa-se uma redução significativa do porcentual da hiperplasia neointimal no grupo de pacientes tratados por implante do stent farmacológico (VestaSync®). $p=0,005$	44

Figura 9 - Exemplo de traçados de pressões e eletrocardiograma obtidos durante o repouso e fases sucessivas da estimulação atrial por marcapasso. No detalhe, espículas do marcapasso durante a frequência máxima	47
Figura 10 - Exemplo de angiografia coronária nas fases do teste de vasomotricidade. Alterações na borda do stent estimadas por programa de angiografia quantitativa coronária	48
Figura 11 - Variação do diâmetro médio das artérias coronárias submetidas a implante de stents VestaSync® em função do estímulo aplicado. Nota-se variação negativa nas bordas do stent com o aumento da frequência de estímulo. Variáveis descritas em média e respectivos erros-padrões.	51
Figura 12 - Variação do diâmetro médio de artérias coronárias submetidas a implante de stents VestaCor® em função do estímulo aplicado. Houve redução contínua do diâmetro arterial médio das bordas dos stents, derivada do aumento da frequência de estímulo. Variáveis descritas em média e respectivos erros-padrões. 6.5.2.3 Comparação entre os grupos VestaSync e VestaCor	53
Figura 13 - Representação gráfica da variação individual do diâmetro arterial médio do vaso entre o repouso e frequência cardíaca máxima. Comparação entre os segmentos analisados por grupo tratado. Valores em mm.	55
Figura 14 - Representação da comparação entre os grupos da mediana das variações do diâmetro médio do vaso nas bordas proximal e distal e no segmento-controle	56
Figura 15 - Gráfico de dispersão da variação de diâmetro da borda distal em função da perda tardia.	57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Medidas de stents disponibilizados para o estudo	22
Tabela 2 - Características clínicas e demográficas dos pacientes.....	37
Tabela 3 - Características clínicas e demográficas dos pacientes submetidos ao teste de reatividade vascular.	38
Tabela 4 - Resultados da Angiografia Coronária Quantitativa pré e pós- procedimento e no reestudo tardio	40
Tabela 5 - Parâmetros relacionados ao procedimento de implante dos stents.	41
Tabela 6 - Análise seriada por ultrassom intracoronário: ao final do procedimento e aos 8 meses de seguimento.....	43
Tabela 7 - Evolução clínica intra-hospitalar e aos 12 meses	45
Tabela 8 - Variação hemodinâmica durante o teste de vasomotricidade.....	46
Tabela 9 - Análise por angiografia coronária quantitativa das bordas proximal e distal dos stents por grupo, em três momentos: frequência cardíaca basal, frequência cardíaca máxima e após aplicação intracoronária de nitroglicerina.....	49
Tabela 10 - Principais estudos da vasomotricidade coronariana após implante de stents farmacológicos.....	69

RESUMO

Almeida, BO. Avaliação da função endotelial após o implante de stents com revestimento cerâmico e baixas doses de sirolimus: Estudo prospectivo, duplo-cego e randomizado[tese]. São Paulo: Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Entidade Associada da Universidade de São Paulo; 2013.

A disfunção endotelial é uma das possíveis causas relacionadas à taxa mais elevada de trombose após o implante da primeira geração de stents farmacológicos. Se a presença do polímero durável ou elevada dose de fármacos antiproliferativos, ou ambos, são responsáveis por este fenômeno não está definido. O Estudo VESTASYNC II comparou um novo stent farmacológico, com superfície revestida por uma camada porosa de hidroxiapatita e impregnado com baixa dose de sirolimus. (55µg - stent VestaSync®) com seu equivalente não farmacológico (Stent VestaCor®). O Vestasync II é um estudo prospectivo, randomizado (2:1) e duplo-cego, que incluiu pacientes com lesões *de novo* em artérias nativas com extensão menor que 14mm, com diâmetro entre 3,0 e 3,5mm. Um subgrupo composto por 20 pacientes (10 em cada grupo) submeteu-se à avaliação da função endotelial, no seguimento angiográfico de oito meses. O objetivo primário foi a comparação da vasomotricidade após o implante de stents com a mesma plataforma, com e sem eluição de sirolimus, a fim de determinar o real impacto de baixa dose do sirolimus na função endotelial. O desfecho de eficácia foi a perda luminal tardia e o percentual de obstrução intra-stent. A avaliação da função endotelial foi realizada através da estimulação atrial com marcapasso (20ppm acima da frequência cardíaca basal até alcançar 150ppm) e o diâmetro luminal foi mensurado nas extremidades proximal e distal do stent e em um segmento controle, em estágios diferentes (repouso, sucessivas fases do estímulo e após a infusão intracoronária de nitroglicerina). A eficácia deste novo dispositivo foi confirmada por angiografia coronária quantitativa (perda luminal tardia VestaSync = 0,39 mm vs. 0,78 mm, $p=0,005$) e ultrassom intravascular (% obstrução VestaSync 9,3% vs. 17,6%, $p=0,005$). Houve variação negativa no diâmetro luminal, entre o repouso e o estímulo máximo, nas bordas proximal (10%) e distal (8%). Entre os segmentos controles esta variação não alcançou 3%. A eluição de dose baixa do sirolimus não parece interferir na função endotelial, oito meses após o implante do stent sem polímero revestido com hidroxiapatita.

Descritores: Doença das coronárias, Stents farmacológicos, Sirolimus, Endotélio.

ABSTRACT

Almeida, BO. Endothelial function evaluation after a ceramic surface coating stent with low dose of sirolimus implantation: A prospective, double-blinded and randomized trial [thesis]. São Paulo: "Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia, Entidade Associada da Universidade de São Paulo; 2013.

Endothelium dysfunction is among the possible causes related to higher thrombosis rates after first generation drug-eluting stents implant. Whether the presence of durable polymer or high anti-proliferative drug dose, or both, can be responsible for this phenomenon is not clear. The VESTASYNC II trial compared a novel polymer-free drug-eluting stent with a nanothin-microporous hydroxyapatite surface coating impregnated with a low-dose of sirolimus (55µg-VestaSync™ stent) to a bare-metal equivalent also coated with a nanothin-microporous hydroxyapatite surface (VestaCor™ stent). This is a randomized (2:1), double-blinded trial which enrolled patients with single *de novo* lesions in native coronary arteries from 3.0 to 3.5mm diameter and less than 14mm in length. A subset of 20 patients (10 from each group) underwent to endothelial function assessment at eight-month angiographic follow-up. The primary objective was to compare the vasomotricity after implantation of stents with the same platform, with and without drug elution, to determine the real impact of low-dose sirolimus release in endothelial function. Efficacy endpoint was in-stent late loss and % of stent obstruction. Endothelial function was assessed with atrial pacemaker stimulation (20 ppm over basal cardiac frequency until reach 150 ppm) and the lumen diameter was measured at 5 mm of proximal and distal stent edges and in a control segment, in different stages (at rest, at successive phases of stimuli and after nitroglycerin intracoronary infusion). The efficacy of this new device was confirmed by means of quantitative coronary angiography (late loss VestaSync = 0.39 mm vs. 0.78 mm, $p=0.005$) and intravascular ultrasound (% obstruction VestaSync 9.3% vs. 17.6%, $p= 0.005$). There was a negative variation in luminal diameter between basal and maximum stimuli in proximal (10%) and distal (8%) edges of both groups. Among control segments this variation did not reach 3%. The elution of low-dose of sirolimus does not seem to interfere in endothelial function 8 months after polymer-free hydroxyapatite coating stent implantation.

Descriptors: Coronary artery disease, Drug-eluting stents, Sirolimus, Endothelium.

1 Introdução

Entre os anos de 1991 e 2009, houve uma redução relativa da ordem de 41% na taxa de mortalidade por doenças cardiovasculares no Brasil. Entretanto, ao final deste período, estas doenças ainda representavam 31,3% das causas dos óbitos nacionais¹. Apesar da implementação e aperfeiçoamento das políticas de prevenção, devido ao grande impacto populacional, torna-se cada vez mais necessário o aprimoramento e desenvolvimento de modalidades terapêuticas.²

Ao longo dos últimos 35 anos, a cardiologia intervencionista vem produzindo contribuições relevantes nesta área. Atualmente, a intervenção coronária percutânea pode ser aplicada a um contingente quase irrestrito de pacientes e lesões, com taxas de sucesso superiores a 95% e mortalidade menor que 1%. Este desempenho sólido fez desta a mais prevalente forma de revascularização miocárdica da atualidade. Nos Estados Unidos da América, em 2009, foram realizadas 1.133.000 intervenções coronarianas, número 2,7 vezes maior que o de cirurgias a céu aberto.³

Os stents constituem o primeiro grande passo desta trajetória, reduzindo significativamente a taxa de reestenose quando comparado aos resultados da angioplastia coronária com balão.⁴ Entretanto, em alguns subgrupos de maior complexidade clínica e angiográfica, como por exemplo, nos portadores de diabetes melito, insuficiência renal crônica ou artérias coronárias de fino calibre, sua incidência pode atingir 50%. Além disso, está demonstrado que a presença de reestenose oclusiva, em diabéticos, é preditora independente de mortalidade a longo prazo, determinando razão de risco superior a 2.⁵

Do ponto de vista fisiopatológico, a reestenose intra-stent resulta de uma complexa cadeia de eventos, iniciados após a injúria causada à parede vascular pela aposição das hastes do stent. Sucodem-se à denudação endotelial, a deposição de plaquetas e fibrinogênio, seguidos por recrutamento e infiltração de leucócitos, proliferação de células musculares lisas e de matriz extracelular que compõem a hiperplasia intimal responsável pela redução da luz arterial.⁶

A busca de alternativas eficazes à prevenção da reestenose levou ao desenvolvimento dos stents com liberação controlada de agentes antiproliferativos para a parede do vaso, através de carreadores (polímeros) aderidos às suas hastes. O trinômio plataforma metálica-polímero-fármaco passou a constituir a essência da primeira geração destes dispositivos.

Estes novos instrumentais demonstraram notável eficácia na prevenção da reestenose. A medida da perda luminal intra-stent, 6 a 9 meses após o implante, apresentou uma redução significativa para valores entre 0,10 mm e 0,30mm, contra uma média histórica de 1mm observada após o implante de stents convencionais. Uma redução proporcional nas taxas de reestenose, clínica e angiográfica, e da necessidade de revascularização das lesões tratadas, também foi observada. Estes decréscimos atingiram a ordem de 50 a 90%, entre os inúmeros cenários clínicos testados em estudos randomizados.⁷⁻⁹

Consequentemente, houve uma expansão nas indicações destes dispositivos, muitas vezes para fora de cenários previstos nos estudos randomizados, de tal ordem que, em 2006, nos Estados Unidos da América, os stents farmacológicos foram empregados em 76% do total das intervenções coronárias percutâneas e, atualmente, atingiram a marca de dois milhões de implantes por ano em todo o mundo. Neste mesmo ano, foram detectados episódios de trombose de stents farmacológicos, ocorrendo entre 1,2% e 3% dos casos, incidência superior à observada após implante de stents convencionais. A trombose do stent, embora de ocorrência rara, tem natureza súbita e grande impacto clínico, pois podem associar-se à mortalidade em até 50% dos casos. Este fato, trouxe questionamentos a respeito da segurança destes novos dispositivos.^{3,10}

Adicionalmente, foram constatados que, grande parte destes episódios ocorria de forma tardia, após 30 dias do implante, ou muito tardia, depois de um ano. Esta lógica temporal contrariava o senso comum construído durante o uso dos stents convencionais: a vasta maioria das tromboses era registrada até trinta dias após o procedimento. Este risco adquiria um caráter de continuidade com o uso dos stents farmacológicos,

apresentando taxa incremental de 0,6% de casos novos por ano em alguns estudos.¹¹⁻¹³

Fatores clínicos, anatômicos ou relativos ao procedimento de implante foram relacionados à gênese da trombose. A descontinuação precoce da dupla terapia de antiagregação plaquetária, braquiterapia coronária prévia, insuficiência renal crônica, diabetes, tratamento de lesões em bifurcações ou no tronco da coronária esquerda não protegido foram identificados como os mais fortes fatores preditores.¹⁴

Entretanto, o comportamento divergente dos stents farmacológicos parece obedecer a um substrato patológico próprio, relacionado ao processo de reparação após a injúria do implante. Ao fim dos 30 dias que sucedem o implante dos stents convencionais, há presença de trombo e atividade inflamatória mínima e quase ausente deposição de fibrina, apesar da incompleta endotelização das hastes. O processo de recobrimento completa-se depois de quatro a 6 meses, e o volume de neoíntima atinge o máximo ao final de 12 meses.

Os stents farmacológicos promovem um retardo expressivo nestes fenômenos. Até 30 dias, observa-se certa similaridade, entretanto, a partir deste ponto, um conjunto de reações inflamatórias e inibitórias é desencadeado que levam à importante supressão das células musculares lisas e consequente inadequado recobrimento das hastes e deposição de fibrina, que pode ser observado até um ano após o implante.¹⁵

Achados de autópsia em pacientes que foram a óbito por trombose tardia de stents farmacológicos demonstram que a presença de hastes não endotelizadas, em um percentual maior que 30% por secção de corte do stent, determina uma razão de risco de 9,0 para trombose. Da mesma forma, achados de angioscopia intracoronária demonstraram recobrimento endotelial incompleto das hastes associando-se à presença de trombo em stents, o que valida os estudos anátomo-patológicos.^{16,17}

Ainda no cenário clínico, a correlação entre cobertura de hastes e ocorrência de trombose de stent foi comprovada com o uso da tomografia de coerência ótica. Pacientes que exibiam cobertura endotelial ótima, traduzida

por um percentual de recobrimento das hastes superior a 89%, não apresentaram trombose e, ao contrário, pacientes com trombose de stents exibem até 21,5% das secções transversais com endotelização parcial. Desta forma, o recobrimento incompleto das hastes e inflamação persistente da parede vascular parecem definitivamente concorrer para a gênese e manutenção do caráter contínuo das trombooses dos stents farmacológicos.^{18,19}

Por outro lado, sabe-se que a qualidade funcional do endotélio é tão fundamental quanto a sua presença. O endotélio é fisiologicamente uma barreira semipermeável que controla a entrada de macromoléculas da corrente sanguínea para a parede vascular. É um órgão complexo com funções endócrinas, exócrinas e parácrinas. Secrete substâncias com ações vasodilatadoras, como a bradicinina e a prostaciclina, ou vasoconstrictoras, como a endotelina 1 e a angiotensina II; antiproliferativas ou proproliferativas (radicais oxidativos, fator de crescimento derivado das plaquetas, interleucinas); marcadores inflamatórios (PECAM, VECAM) e fatores pró-angiogênese (fator de crescimento vascular do endotélio). Estas substâncias fazem parte de um complexo sistema bioquímico que controla a vasomotricidade, adesão de plaquetas e leucócitos, proliferação de células da musculatura lisa, inflamação e trombose.²⁰

A principal molécula produzida pelo endotélio é o óxido nítrico. Em condições fisiológicas, agentes físicos, como a força de cisalhamento e químicos, como a acetilcolina, causam estímulo às células endoteliais que promovem a conversão da L-arginina em L-citrulina pela enzima óxido nítrico sintetase endotelial (e-NOS) com consequente liberação do óxido nítrico. Após a síntese, sob a forma de gás lábil, este difunde-se pela membrana celular aumentando o nível de GMP cíclico nas células musculares lisas, promovendo a redução do cálcio intracelular e vasodilatação.²¹

A perda do equilíbrio entre estas funções dá origem ao processo de disfunção endotelial, cujo principal marcador é a perda da capacidade do relaxamento do vaso, seja por depleção ou baixa produção do óxido nítrico

celular ou pelo aumento na produção de vasoconstrictores como a endotelina.

A disfunção endotelial faz parte da fisiopatologia da aterosclerose e, principalmente da patogênese das síndromes coronárias agudas, onde o endotélio pode interferir diretamente nos diversos momentos deste processo: desde a rotura ou erosão da placa, alteração da contratilidade vascular, com promoção de vasoconstrição até na alteração da microcirculação, com impacto no *vasa vasorum*. Estudos experimentais demonstraram o aumento no *vasa vasorum* associado à progressão da placa e que por essa razão a placa pode ficar mais sensível aos vasoconstrictores e esses neovasos sujeitos à ruptura com subsequente hemorragia intraplaca.²²⁻²⁴

Por outro lado, a disfunção endotelial parece ser um marcador comum a vários fatores de risco como diabetes, dislipidemia e hipertensão, podendo ser considerado "o fator de risco" dos fatores de risco. Esta condição demonstrou ser preditora independente de eventos cardiovasculares maiores, como infarto, acidente vascular cerebral e morte súbita. Pacientes com disfunção endotelial apresentam risco duas vezes maior de um evento cardiovascular adverso que pacientes onde este distúrbio está ausente.²⁵

A intervenção coronária percutânea interfere diretamente no endotélio e parece plausível pensar que dispositivos de intervenção coronária com distintos mecanismos de ação provoquem graus de injúria vascular e impactos diversos no endotélio. Caramori *et al.*²⁶ demonstraram que, após infusão intracoronária de acetilcolina, havia vasoconstrição significativamente maior em vasos tratados por stents convencionais do que naqueles submetidos à dilatação por angioplastia convencional por balão ou aterectomia direcional, propondo que a disfunção endotelial induzida seria dispositivo-dependente.

Estes achados foram contrapostos por Maier *et al.*²⁷ que demonstraram vasomotricidade tardia preservada nas bordas de stents convencionais, questionando a presença e o grau da disfunção endotelial induzidas por estes dispositivos.

A presença de disfunção endotelial após o implante de stents farmacológicos da primeira geração tem sido demonstrada de forma mais consistente. Comparados aos stents convencionais, estes dispositivos associaram-se à vasoconstrição significativa nas bordas proximal e distal, quer após a infusão intracoronária de acetilcolina quer após a realização de exercícios físicos.²⁸⁻³⁰

Os mecanismos através dos quais os stents farmacológicos de primeira geração são capazes de induzir disfunção endotelial grave ainda não estão completamente elucidados. A análise da composição destes dispositivos certamente é capaz de fornecer elementos que auxiliem nesta compreensão.

A espessura das hastes da plataforma metálica, do stent com eluição de sirolimus, de primeira geração, *Cypher*[®] (sirolimus-eluting stent; Cordis Corporation, Johnson & Johnson, Warren, NJ), 140 µm, foi associada a um acréscimo de 42% nas taxas de reestenose angiográfica, quando comparada a stents com plataformas de 50 µm de espessura. A maior injúria promovida pelas hastes no vaso é o principal mecanismo atribuível a este fenômeno. O sirolimus, fármaco componente destes stents, antibiótico da classe dos macrolídeos, tem efeito citostático, bloqueando o ciclo celular na fase G0. Liga-se ao receptor intracelular FKBP12, formando um complexo que inibe diretamente a quinase denominada mTOR (mammalian Target Of Rapamycin), o que leva, em última análise, à inibição da proliferação e migração das células da musculatura lisa vascular. Experimentalmente, foi demonstrado que o sirolimus inibe a regeneração das células endoteliais e associa-se diretamente à perda de relaxamento arterial dependente do endotélio.^{31,32}

Polímeros são compostos de cadeia longa e foram utilizados como carreadores do fármaco componente dos stents farmacológicos. Os polímeros utilizados na primeira geração destes instrumentais são duráveis e não têm comportamento biológico inerte. Reações tardias de hipersensibilidade ao polímero foram descritas, observando-se ao redor das hastes infiltrados de macrófagos e eosinófilos. Além disso, problemas físicos

como a distribuição heterogênea do polímero nas hastes dos stents, grande espessura da camada, aprisionamento de hastes e delaminação do recobrimento foram descritos para esta geração.^{33,34}

Na realidade, é razoável que à maior agressão suceda-se uma reação inflamatória proporcional, interferindo na produção das células endoteliais não apenas no aspecto quantitativo (grau de recobrimento) mas também na função das mesmas. Consequentemente, há espaço para o aprimoramento dos stents farmacológicos visando torná-los dispositivos dotados da eficácia já alcançada na prevenção da reestenose, porém com um perfil de segurança maior. Desta forma, os benefícios clínicos da prevenção da reestenose poderiam alcançar impacto na mortalidade.

Uma abordagem alternativa inclui a eliminação do polímero, através da alteração na superfície das hastes. Amazonia PAX[®] (MINVASYS, Paris, France), BioFreedom[®] (Biosensors Inc, Newport Beach, Calif), OPTIMA (CID S.r.l., Saluggia, Italy) e YUKON[®] ChoiceDES (Translumina, German) fazem parte do grupo de novas tecnologias que teria potencialmente, um perfil mais seguro entre os stents farmacológicos. O stent VestaSyn[®] utiliza uma modificação da superfície das hastes que emprega um recobrimento poroso de hidroxiapatita para carrear uma baixa dose de sirolimus. As propriedades bioativas da hidroxiapatita teoricamente poderiam ter impacto benéfico na preservação da função endotelial, em pacientes com aterosclerose coronariana submetidos à intervenção percutânea.³⁵

Desta forma, propõe-se a comparação randomizada entre stents que compartilham a mesma plataforma, com ou sem eluição de baixas doses de sirolimus, utilizando-se os desfechos angiográficos e ultrassonográficos para testar a eficácia. A comparação entre stents de características físicas idênticas, pode eliminar a influência da plataforma e, neste caso também do polímero, na função endotelial, evidenciando a ação do fármaco na maturação das células endoteliais.

2 Hipótese

O estudo teve como principal hipótese que um stent com plataforma metálica não polimérica e com eluição de baixas doses de sirolimus manteria a eficácia anti-reestenótica e preservaria a função endotelial na artéria coronária tratada.

3 Objetivos

3.1 Objetivo primário

O objetivo primário deste estudo foi avaliar, de forma comparativa, a vasomotricidade de artérias coronárias nativas, oito meses após o implante de stents recobertos por hidroxiapatita, com ou sem eluição de baixas doses de sirolimus, no tratamento de lesões *de novo*.

3.1.1 Objetivos secundários

A comparação entre os dois grupos das seguintes variáveis angiográficas, ultrassonográficas e clínicas:

3.1.2 Desfechos angiográficos (Angiografia Coronária Quantitativa)

- Diâmetro mínimo da luz arterial nos seguintes momentos: antes do procedimento e imediatamente após o implante do stent no procedimento índice. No angiograma-controle realizado oito meses após o implante, no segmento intra-stent;
- Diâmetro mínimo da luz arterial nos 5mm das extremidades proximal e distal do stent: antes do procedimento, imediatamente após e, aos 8 meses pós-implante do stent;
- Ganho luminal agudo;
- Perda luminal tardia.

3.1.3 Desfechos ultrassonográficos

- Volumes do vaso e da luz no segmento do vaso-alvo imediatamente após o procedimento e aos oito meses de evolução;
- Porcentual e volume de hiperplasia neointimal intra-stent.

3.1.4 Desfechos clínicos

- Incidência de eventos combinados (morte de todas as causas, infarto agudo do miocárdio e revascularização do vaso-alvo) até 12 meses de evolução pós-implante do dispositivo.

4 Métodos

4.1 Delineamento do estudo

Estudo randomizado, duplo-cego, prospectivo e realizado em duas instituições distintas, Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia e Hospital Santa Marcelina, aprovado previamente pelos Comitês de Ética em Pesquisa dos hospitais participantes.

A randomização foi realizada na proporção 2:1, utilizando-se envelopes selados, para os grupos VestaSync ou VestaCor. Pacientes do grupo VestaSync receberam o implante de stents não poliméricos com revestimento de hidroxiapatita e eluição de fármaco, e os pacientes do grupo VestaCor, stents com plataforma idêntica, porém na versão não farmacológica. O fluxograma em anexo demonstra o desenho do estudo.

4.2 Casuística

A amostra inicial foi composta por 75 pacientes portadores de doença coronariana obstrutiva com indicação para tratamento intervencionista percutâneo. Avaliações clínicas foram realizadas antes do procedimento de implante do dispositivo estudado e ao final do 1º, do 4º, do 8º e do 12º meses que se sucederam ao procedimento inicial. A partir deste ponto, avaliações anuais foram realizadas até o final do 3º ano.

Aos oito meses de seguimento, os pacientes foram submetidos ao controle angiográfico. Este exame controle poderia ser antecipado em caso de recidiva de angina do peito, infarto agudo do miocárdio ou evidência objetiva de isquemia miocárdica, detectada por prova funcional. Neste caso, os achados foram computados como resultados tardios e, caso não fosse observada reestenose angiográfica, novo procedimento seria realizado aos oito meses.

Os dez primeiros indivíduos alocados em cada grupo foram selecionados para a realização do teste de vasomotricidade e ultrassonografia intracoronária durante o controle angiográfico. Estes pacientes compõem o subgrupo de interesse primário deste estudo.

Adicionalmente, outros vinte pacientes do grupo VestaSync e cinco pacientes do grupo VestaCor foram escolhidos de forma aleatória para compor o subgrupo do estudo ultrassonográfico intracoronário.

4.3 Critérios de inclusão

4.3.1 Clínicos

Os pacientes deveriam obedecer aos seguintes critérios clínicos para serem considerados candidatos ao estudo:

- Terem idade igual ou superior a 18 anos;
- Se do sexo feminino, estivessem fora de idade fértil;
- Terem diagnóstico de angina estável definida pela classificação da Canadian Cardiovascular Society (CCS I, II, III, IV), isquemia silenciosa documentada ou mesmo angina instável, desde que não houvesse alteração de marcadores de necrose miocárdica;
- Pacientes com infarto agudo do miocárdio, com ondas Q ou não-Q, foram incluídos desde que: tivessem evolução clínica superior a 72 horas, sem complicações e dosagem de marcadores séricos de necrose miocárdica dentro dos limites da normalidade;
- Serem capazes de assinar o termo de consentimento livre e esclarecido antes do procedimento e concordarem com os termos do protocolo.

4.3.2 Angiográficos

Na análise angiográfica prévia por ocasião da cinecoronariografia diagnóstica, deveriam ser obedecidos os seguintes critérios para eleição ao estudo:

- Ser lesão primária (*de novo*) em artéria coronária nativa, cujo diâmetro de referência poderia variar entre 3,0 mm e 3,5mm, por quantificação visual;
- Apresentar comprimento inferior a 15 mm por estimativa visual, que pudesse ser coberta por um único stent do estudo (19 mm de comprimento), deixando margens livres de pelo menos 2 mm;
- A artéria deveria apresentar fluxo TIMI 2 ou superior;
- Caso existissem lesões em mais de um vaso, somente um poderia ser randomizado para o tratamento.

4.4 Critérios de exclusão

4.4.1 Clínicos

Na presença de qualquer dos fatores listados abaixo, o indivíduo não poderia ser qualificado para participação neste estudo:

- Recusa do paciente ou seu representante legal de assinar o termo de consentimento;
- Evidência de um infarto agudo do miocárdio que houvera ocorrido num período menor que 72 horas antes do tratamento intencionado (infarto com ondas Q ou não-Q com elevação enzimática; CK-MB > 2 vezes o limite superior normal ou elevação de troponina);
- Presença de qualquer destes achados laboratoriais: creatinina sérica superior a 1,5mg/dL; contagem de plaquetas inferior a 100.000 células/mm³ ou superior a 700.000 células/mm³; contagem de leucócitos inferior a 3.500 células/mm³ e dosagem de hemoglobina menor que 10g/dL;
- Disfunção ventricular esquerda grave (fração de ejeção menor que 30%);

- Doenças terminais associadas à expectativa de vida limitada (menor que 5 anos);
- Portadores de vírus da imunodeficiência humana (HIV), hepatite B (HBV), hepatite C (HCV) ou infecção por tuberculose (TB);
- História de acidente vascular cerebral isquêmico ou hemorrágico nos 6 meses precedentes;
- Sangramento gastrointestinal ou geniturinário significativo nos 6 meses precedentes;
- Ter sido submetido à intervenção coronária percutânea até trinta dias anteriores ao procedimento;
- Ter qualquer tratamento cirúrgico planejado para os próximos 12 meses;
- Requerer intervenção percutânea no vaso-alvo ou não alvo nos trinta dias subsequentes ao procedimento índice;
- Hipersensibilidade conhecida ou contraindicação ao uso de heparina, ácido acetilsalicílico ou clopidogrel;
- Ser participante de outro protocolo de investigação de novos medicamentos ou dispositivos.

4.4.2 Angiográficos

Os seguintes achados angiográficos foram considerados excludentes da participação no estudo:

- Lesão obstrutiva no tronco da artéria coronária esquerda, determinando redução luminal igual ou maior que 50%;
- Lesão de localização ostial;
- Lesão-alvo em bifurcações cujo ramo lateral apresentasse diâmetro maior que 2,0 mm;
- Presença de trombo na lesão-alvo;
- Calcificação excessiva na artéria-alvo, que implicasse a necessidade do emprego de técnicas átero-ablativas;

- Implante prévio de stent em qualquer local do vaso-alvo;
- Necessidade de implante de mais de um stent;
- Braquiterapia prévia do vaso-alvo;
- Presença de tortuosidade severa;
- Presença de estenose significativa no vaso-alvo (maior que 40%) e que não fosse abordada no procedimento índice.

4.5 Critérios de interrupção

A todos os sujeitos foi reservado o direito de retirar-se do estudo, a qualquer momento e sem nenhum prejuízo. Foi facultado ao investigador o direito de retirar qualquer sujeito do estudo, a seu julgamento clínico, em qualquer momento. Houve obrigatoriedade do registro de cada sujeito quanto à conclusão do estudo clínico e a razão específica no caso de não haver completado o seguimento.

4.6 Dispositivo investigado

Os dispositivos utilizados neste estudo foram o sistema de stent coronário com eluição de sirolimus VestaSync® e o sistema de stent coronário convencional VestaCor®.

Os sistemas compartilham características estruturais que os tornam idênticos, exceto pela possibilidade de eluição de sirolimus:

Plataforma de stent Protea™ de cromo cobalto L605, com o desenho mais recente e espessura de hastes de 65µm (MIV Therapeutics, Inc.);

Cobertura microporosa de hidroxiapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ com espessura de 0,6 µm;

Sistema de liberação por balão.

Figura 1 - Componentes principais do stent VestaSync®. (A) Microscopia eletrônica da cobertura de hidroxiapatita, (B) corte transversal da cobertura de hidroxiapatita, (C) plataforma metálica recoberta, e (D) corte transversal da cobertura de hidroxiapatita impregnada por sirolimus. (Adaptado da referência 37)

A hidroxiapatita, que substitui o polímero neste stent, pertence a uma classe de materiais cálcio-fosfato e é quimicamente similar ao componente mineral dos ossos e tecidos duros em mamíferos. É um dos poucos materiais classificados como bioativos. Isto significa que promove crescimento e integração óssea, quando usada em aplicações ortopédicas e dentais. A biocompatibilidade depende da aceitação do material pela célula hospedeira, na ausência de reação adversa, imune ou tóxica.

Tem sido mostrado claramente, em estudos *in vitro*, que os nanocristais de hidroxiapatita exibem alta biocompatibilidade com o endotélio microvascular sem qualquer efeito citotóxico. Na presença destes nanocristais, células endoteliais exibem expressão de marcadores bioquímicos, como a óxido nítrico sintetase (eNOS), o que sugere a preservação da função endotelial.

A hidroxiapatita reveste as hastes do stent numa camada de 0,6 µm de espessura, que permanece estável por 4 meses. A partir deste ponto, um

processo de reabsorção natural inicia-se e estará completo após um período que varia entre 9 e 12 meses, transformando-se o stent numa plataforma metálica convencional.

A camada microporosa nas hastes do stent demonstrou ser capaz de reter um composto lipídico que contém dose reduzida de sirolimus (55µg). A estrutura modificada do binômio “carreador/fármaco” permitiu que o stent apresentasse uma cinética de liberação mais adequada com relação ao stent Cypher®. Durante a primeira hora, a entrega de sirolimus é semelhante, ocorrendo diminuição logo após as primeiras horas, para metade da dose do stent Cypher®, atingindo a eluição completa ao final do 4º mês.(35)

Figura 2 - Curva de eluição do sirolimus do stent VestaSync®. O processo de eluição está finalizado após 4 meses (adaptado da referência 35).

Este dispositivo foi testado no estudo clínico VestaSync I, quando foi implantado em lesões *de novo* de artérias coronárias em 15 pacientes. A perda luminal obtida no seguimento angiográfico de 4 meses foi $0,36 \pm 0,23$ mm, e o percentual de obstrução ao intracoronário $4 \pm 2,2$ %. Não foram observados eventos clínicos adversos maiores até 12 meses de seguimento.

Os achados sugeriam eficácia do dispositivo, determinado pelo poder de inibição da hiperplasia neointimal e potencial vantagem no aspecto da segurança, pela ausência de polímero, justificando a condução de um estudo com maior casuística.^{36,37}

Foram disponibilizadas, para a utilização no presente estudo, as seguintes dimensões de stents VestaSync® e VestaCor®:

Tabela 1 – Medidas de stents disponibilizados para o estudo

Diâmetros	Comprimentos
3,0 mm	8*, 19 ou 29* mm
3,5 mm	8*, 19 ou 29* mm

*Medidas dos stents disponíveis para uso em situações de salvamento ou proporcionar cobertura completa da lesão.

4.7 Avaliação pré-procedimento

Uma vez confirmada a elegibilidade do paciente para o estudo, o mesmo foi consultado sobre o desejo de participar ou não da investigação. A finalidade, benefícios, riscos associados foram expostos e esclarecidas possíveis dúvidas. Havendo concordância, o paciente assinou o termo de consentimento antes da randomização.

Avaliação clínica prévia de todos os candidatos ao estudo foi exigida até 24 horas antes da intervenção. Neste momento, foi registrada a história clínica, o exame físico e verificados os seguintes exames laboratoriais: eletrocardiograma de repouso, hemograma, coagulograma, glicemia de jejum, eletrólitos, ureia e creatinina sérica e marcadores de necrose miocárdica (CK-MB e/ou troponina). A dupla terapia de antiagregação plaquetária com o uso de ácido acetil salicílico na dose de 200 mg/dia e de clopidogrel na dose inicial de 300 mg, seguida pela

administração de 75 mg diárias foi iniciada num prazo mínimo de 24h antes do implante do dispositivo do estudo, sem exceções permitidas.

4.8 Técnica de implante dos stents

Os procedimentos foram realizados por via femoral, empregando-se a técnica de Judkins. Após a punção da artéria femoral comum e colocação do introdutor arterial, foi administrado *bolus* de heparina não fracionada, por via endovenosa, na dose de 100 UI/kg. Foi realizado cateterismo seletivo da artéria coronária envolvida seguido pela administração intracoronária de 200µg de nitroglicerina. A artéria-alvo foi filmada, no mínimo, em duas projeções ortogonais, com velocidade de aquisição de 30 quadros por segundo.

Uma corda-guia de 0,014 polegadas foi dirigida no leito arterial, passando através da lesão-alvo e posicionada na porção distal da artéria. A pré-dilatação da lesão foi exigida, tendo-se utilizado para este fim cateteres-balão cujos diâmetros fossem pelo menos 0,5 mm menores que os diâmetros de referência do vaso e de extensão menor que o stent a ser implantado. Estes cateteres foram posicionados no local da lesão e insuflados até que a pressão nominal fosse atingida e obtida a dilatação da lesão.

A escolha do tamanho do stent buscava a cobertura completa da lesão-alvo. A técnica de implante ótimo do stent foi exigida, encorajando-se o uso de pressões acima de 12 atm na liberação dos mesmos. A pós-dilatação dos stents, quando necessária, foi realizada com cateteres-balões de comprimento menor que a extensão do stent implantado, de forma que injúrias nas bordas fossem evitadas.

À ocorrência de dissecções arteriais, o operador teve stents adicionais à disposição, respeitando o tipo empregado em cada grupo, e sem restrição para a completa resolução da mesma. Intervalos entre próteses consecutivas foram evitados, de modo que devia haver a sobreposição de três milímetros entre as mesmas.

Uma vez alcançados os critérios de sucesso, considerava-se encerrado o procedimento e, antes do controle angiográfico final, nova dose de 200µg de nitroglicerina intracoronária era administrada.

Ao final do procedimento, os pacientes eram admitidos na unidade de internação e submetidos à realização de ECG e à dosagem de CK-MB 8 e 12 horas após o final do procedimento. A retirada do introdutor era feita quando o tempo de coagulação ativado (TCA) fosse menor que 180 segundos ou seis horas após o término do procedimento.

No dia seguinte à angioplastia, dosagens séricas de creatinina, CKMB e hemograma eram realizadas, assim como o registro do eletrocardiograma. Os pacientes, desde que assintomáticos e cujos exames encontraram-se dentro da normalidade, receberam alta hospitalar entre 24 e 48 horas após da conclusão do procedimento.

No momento da alta, foi observada a prescrição de ácido acetilsalicílico por tempo indefinido e de clopidogrel por um período nunca inferior a seis meses. Após cada visita clínica, a subsequente era programada, sendo reforçada a programação para que, aos oito meses, o estudo angiográfico controle fosse realizado e o seguimento clínico desejado fosse alcançado.

4.9 Protocolo da avaliação angiográfica tardia

Aos oito meses de evolução pós-implante de stent, os pacientes foram submetidos à angiografia-controle; as imagens foram adquiridas obedecendo ao seguinte padrão. Após cateterismo seletivo do vaso-alvo, conforme técnica-padrão, realizava-se infusão intracoronária de 200-300 microgramas de nitroglicerina, para obtenção de vasodilatação máxima. Iniciava-se a filmagem, sem a presença de contraste no lúmen do cateter, a velocidade de 30 quadros por segundo. Foram utilizados diafragmas idênticos, evitando-se a movimentação da mesa de exames.

As projeções selecionadas para análise quantitativa na angiografia índice, foram as mesmas repetidas durante o exame controle. Para as

lesões tratadas na coronária esquerda, três projeções foram selecionadas e para as lesões localizadas na artéria coronária direita, somente duas.

As imagens angiográficas e ultrassonográficas obtidas foram arquivadas para análise posterior *off-line*, em laboratório independente e cego quanto ao grupo de tratamento randomizado. Todos os angiogramas, índice e controle, encontram-se arquivados em *CD-ROM*, em padrão DICOM.

4.10 Análise angiográfica quantitativa

Para a análise angiográfica, utilizou-se programa de angiografia quantitativa (QCA-CMS versão 7.2, Medis Medical Imaging Systems, Nuenen, Holanda). Foram selecionados para análise quadros na fase final da diástole, onde a maior gravidade da lesão esteve evidenciada. A mensuração iniciou-se com a calibração do sistema, utilizando-se para referência o cateter-guia de diâmetro conhecido, sem contraste em seu interior. A seguir, o sistema detecta as bordas de forma automática, baseando-se pela variação do brilho da luz no interior do vaso.

Os seguintes dados quantitativos foram obtidos diretamente ou derivados das medidas diretas, por aplicação de fórmulas matemáticas:

- **Diâmetro de referência (DR):** medida da distância, em milímetros, entre os dois contornos do vaso, na porção considerada angiograficamente normal. Foi considerado para a análise o DR interpolado, calculado a partir da média aritmética dos diâmetros de referência proximal e distal, obtidos usualmente a 10 mm das bordas da lesão;
- **Diâmetro luminal mínimo (DLM):** medida da distância, em milímetros, entre as duas bordas luminais, no ponto de maior estreitamento vascular. Foi mensurada no segmento intra-stent e no segmento do vaso-alvo, compreendido pelos 5 mm proximais e distais às bordas da endoprótese;

- **Extensão da lesão:** Obtido pela medida, em milímetros, da distância entre os pontos imediatamente antes e após a estenose-alvo, considerados como isentos de ateromatose pela angiografia;
- **Porcentual de estenose do vaso (%E):** Através da aplicação da fórmula: $\%E = (DR - DLM / DR) \times 100$.

Os valores dos diâmetros luminiais mínimos obtidos, em momentos distintos, para os segmentos intra-stent, na borda proximal, borda distal, e no segmento do vaso (stent + bordas) foram comparados. Desta relação foram calculados os seguintes parâmetros de avaliação da estenose angiográfica:

- **Ganho agudo (GA):** Define a ampliação da luz do vaso imediatamente após o final da intervenção. Calculado a partir da fórmula: $GA = DLM \text{ pós} - DLM \text{ pré}$;
- **Perda tardia (PT):** Reflete a redução da luz do vaso no local tratado, na angiografia controle aos nove meses, desta forma obtida: $PT = DLM \text{ pós} - DLM \text{ aos oito meses}$.

4.11 Teste de vasomotricidade

O estudo da função endotelial foi realizado durante o reestudo angiográfico, aos oito meses, de acordo com o método previamente descrito por Hamilos et al.³⁸ Os medicamentos com ação sobre a musculatura lisa vascular foram suspensas por no mínimo 24 horas e betabloqueadores, por 48 horas antes deste procedimento.

Um eletrodo de marcapasso temporário foi introduzido por punção da veia femoral direita e posicionado na parede lateral alta do átrio direito. Após cateterismo seletivo da artéria-alvo do estudo com cateteres de Judkins 6F com curva selecionada de acordo com a artéria de interesse, a projeção que melhor definia o segmento tratado foi escolhida e, a partir deste momento, não foram permitidas mudanças na angulação e rotação do intensificador de imagem do aparelho ou na altura da mesa. As condições hemodinâmicas basais foram registradas, assim como o registro angiográfico da artéria previamente submetida ao implante do stent.

O procedimento consistia de fases sucessivas e sem intervalo, de estimulação artificial com marcapasso com duração de dois minutos. A estimulação atrial era iniciada a uma frequência de 20 pulsos por minuto acima da frequência cardíaca basal, acrescentava-se 20 pulsos por minutos a cada fase, e a estimulação era interrompida quando a frequência cardíaca atingia 150 ppm ou em caso de dor precordial. Em caso de bloqueio de Wenckebach, estimulação ventricular foi realizada.

Ao final de cada fase, durante o pico da estimulação e na volta ao repouso, eram obtidos registros da frequência cardíaca, pressão arterial e adquirido registro angiográfico, mandatoriamente a 30 quadros por segundo.

Adicionalmente, quando encerradas as fases de estimulação, realizava-se infusão intracoronária de nitroglicerina na dose de 200 mcg para a coronária direita ou 300 mcg para a coronária esquerda e realizava-se o controle angiográfico final.

Figura 3 - Etapas da pesquisa de vasomotricidade com marcapasso. A mudança de estágio implica um aumento da frequência de estimulação em 20 pulsos por minuto. Após 2 minutos de estimulação na frequência máxima predita (150 ppm), a prova era suspensa.

4.12 Análise angiográfica do teste de vasomotricidade

Os angiogramas dos pacientes submetidos ao teste de vasomotricidade passaram durante a análise angiográfica por medidas adicionais distintas dos demais. Foi utilizado para as medidas *off-line* o programa de angiografia quantitativa (QCA-CMS ver 7.2, Medis Medical Imaging Systems, Nuenen, Holanda).

O protocolo de avaliação angiográfica específico para a prova de função endotelial compreendeu a medida dos diâmetros luminais médios em cada um dos seguintes segmentos: nos 5 mm proximais e distais às bordas dos stents do estudo e, adicionalmente, em um segmento controle que foi definido como um vaso não alvo, quando se tratava da coronária esquerda ou de um segmento o mais distante possível do stent em estudo, quando a artéria coronária direita havia sido alvo do tratamento.

Figura 4 - Local de interesse para análise angiográfica da prova de vasomotricidade. As setas apontam para os 5mm proximais e distais ao stent no segmento.

Figura 5 - Local de interesse para análise angiográfica da prova de vasomotricidade. As setas apontam para os 5mm proximais e distais ao stent no segmento.

A calibração do sistema foi obtida separadamente para as medidas do repouso e de cada fase subsequente. Padronizou-se que o coeficiente de variação utilizado seria inferior a 3%. Uma vez obtidas as medidas, estabeleceu-se uma comparação entre os diâmetros médios de cada segmento e em cada fase para obter-se uma variação porcentual. Foram consideradas relevantes variações superiores a 3%, fora do coeficiente de variação do método. Os grupos foram comparados de acordo com a variação absoluta e porcentual observada: em cada borda (proximal e distal) entre as bordas e o segmento-controle. Considerou-se a variação do diâmetro do vaso após a administração de nitroglicerina como indicador de vasodilatação independente do endotélio.

Figura 6 - Parâmetros avaliados na angiografia coronária quantitativa seriada no segmento do stent durante prova de vasomotricidade.

4.13 Protocolo da avaliação ultrassonográfica aos oito meses

O exame ultrassonográfico somente foi realizado aos oito meses, durante a angiografia controle. Após infusão intravenosa de heparina na dose de 70 unidades por quilo, e intracoronariana de nitroglicerina (100 a 200 microgramas), uma corda-guia de 0,014 polegadas foi introduzida as porções distais do vaso-alvo. Por sobre este guia, foi introduzido um cateter-transdutor de 40 MHz (Atlantis SR-Pro) com diâmetro de 2,6 French, que é compatível com uso de cateter-guia 6 French foi acoplado ao equipamento de ultrassom i-Lab (Boston Scientific Corporation).

Este cateter apresenta um cristal piezo elétrico na extremidade que gira a uma velocidade de 700 a 1.800 rpm e gera imagem de 360° ao longo do eixo longitudinal do vaso. Um sistema de tração automática permite deslocamento do cateter de ultrassom a uma velocidade constante de 0,5 mm/s. As imagens foram arquivadas em CD-ROM para posterior análise *off-line*, de acordo com as normas do “American College of Cardiology’s Clinical Expert Consensus Document on IVUS.

4.14 Análise ultrassonográfica *off-line*

Para análise, foi utilizado um programa de planimetria computadorizada comercialmente disponível (EchoPlaque; INDEC Systems, MountainView, CA).

Nos segmentos de referência que se estendem por 5 mm das bordas proximal e distal do stent foram obtidas:

Área do vaso ou da membrana elástica externa (MEE): delineada automaticamente na transição das camadas média e adventícia;

Área da placa + média (P + M): Calculada pela diferença entre as áreas de MEE e do lúmen arterial.

Dentro do stent foram avaliadas:

Área do stent: obtida automaticamente a partir do delineamento das hastes do stent;

Área do lúmen arterial: Delineada pelos limites de contato do sangue e a camada íntima do vaso;

Área da íntima: calculada pela diferença entre as áreas do stent e do lúmen arterial.

$$\text{Volume} = \sum_{i=0}^n S_i = S_1 \times d_1 + S_2 \times d_2 + \dots S_{n-1} \times d_{n-1} + S_n$$

Os volumes do stent, lúmen arterial e da íntima foram calculados utilizando-se a fórmula de Simpson:

Onde S= área de secção transversal do vaso; d= distância entre secções transversais, n= número de cortes de secção transversal.

A partir daí, o percentual de obstrução do stent foi calculado pela razão entre o volume da íntima e o volume do stent multiplicada por 100.

4.15 Definições clínicas

Para definição dos eventos clínicos, foram utilizados os critérios do Academic Research Consortium:³⁹

Sucesso clínico: Implante do stent com sucesso angiográfico, observada estenose residual menor que 30% e fluxo distal TIMI 3, na ausência de óbito, IAM ou cirurgia de revascularização do miocárdio nas primeiras 24 horas.

Trombose do stent:

Segundo definição, foi classificada em:

- Definitiva: Necessidade de comprovação angiográfica ou patológica;
- Provável: Morte inexplicada nos primeiros 30 dias. IAM cuja artéria relacionada ao evento tenha sido local de implante do stent;
- Possível: Morte inexplicada ocorrendo entre 30 dias e até o fim do período de seguimento.

Segundo o tempo de aparecimento, foi classificada em:

- Aguda, que ocorre entre 0 e 24 horas após o implante do stent;
- Sub-aguda entre 24 horas e 30 dias;
- Tardia: a partir do segundo mês e até um ano;
- Muito tardia: a que ocorre a partir de um ano.

Reestenose angiográfica: Lesão angiográfica maior ou igual a 50% em local previamente tratado, observado na angiografia controle.

Eventos clínicos maiores: Óbito, infarto agudo do miocárdio não fatal e revascularização da lesão-alvo por intervenção percutânea ou cirúrgica, durante o acompanhamento clínico.

Infarto do Miocárdio: Será considerado na presença de aumento da CK-MB acima de 3 vezes do valor de referência ou aparecimento de novas ondas Q em pelo menos duas derivações contíguas do ECG.

4.16 Análise estatística

Na estatística descritiva do estudo, as variáveis contínuas foram apresentadas na forma de média e respectivos desvios-padrão ou mediana com intervalo de confiança (25%-75%), e as variáveis categóricas encontram-se expressas por meio de suas frequências absolutas e porcentagens. Para estatística inferencial, utilizou-se do teste *t* de Student para comparação das variáveis contínuas e, para as variáveis qualitativas, do teste do qui-quadrado ou Exato de Fisher, quando as premissas não suportam o uso do primeiro.

Foram testadas as distribuições das variáveis pelo método de Shapiro-Wilk, no subgrupo da análise da vasomotricidade, devido à menor casuística. Quando a normalidade foi aceita, o teste *t* de Student para amostras pareadas foi utilizado e, quando a distribuição normal foi rejeitada, o método de Mann-Whitney para amostras pareadas foi o escolhido. Nas comparações múltiplas entre grupos, utilizou-se o teste Kruskal-Wallis ou análise de variâncias (ANOVA) com um fator, associado ao teste de Bonferroni. O programa SPSS (versão 17.0) foi empregado para os cálculos estatísticos.

4.17 Cálculo do tamanho da amostra

Para o cálculo amostral, assumimos que a variação percentual no diâmetro luminal, medido no segmento proximal do stent após taquicardia máxima, seria de $-0,9 \pm 9,1\%$ para o grupo tratado com stent com eluição de sirolimus e de $10,7 \pm 8,1\%$ para o grupo tratado por stent sem liberação de fármaco. Estes dados foram extraídos do estudo de Hamilos *et al.*⁴⁰, que utilizava a metodologia proposta, estimulação com marcapasso cardíaco, para estudo da função endotelial de artérias coronárias.

Baseando-se nestes dados, propomos uma comparação bicaudal com nível α de 0,05 e poder de 80% e achamos que seriam necessários 9

pacientes em cada grupo. Considerando-se possíveis perdas, este número foi aproximado para 10.

5 Resultados

5.1 População do estudo

Entre abril de 2008 e novembro de 2009, 75 pacientes foram incluídos no estudo. Pela análise da tabela 1, nota-se que, embora o sexo masculino tenha predominado em ambos os grupos, no grupo VestaSync esta proporção foi significativamente maior que no grupo VestaCor (86% vs. 64%, $p=0,03$). As formas estáveis de apresentação clínica foram as mais prevalentes. No grupo VestaSync, somente 18% dos indivíduos apresentavam síndrome coronária aguda, entretanto, no grupo VestaCor este percentual elevava-se a 40%, com significância estatística na comparação entre os grupos ($p=0,04$). A prevalência dos principais fatores de risco foi comparável em ambos os grupos: diabetes (26%vs.32%, $p=0,58$), dislipidemia (62%vs.72%, $p=0,39$), hipertensão (76% vs.72%) e tabagismo (70% vs.76%, $p=0,7$), assim como o perfil bioquímico basal e a terapêutica medicamentosa administrada previamente.

Tabela 2 - Características clínicas e demográficas dos pacientes.

Variáveis	VestaSync (n=50)	VestaCor (n=25)	Valor de p
Idade (anos), média $\pm$DP	60,18 $\pm$ 8,5	62,04 $\pm$ 9,19	0,40
Gênero (masculino), n (%)	43 (86%)	16 (64%)	0,03
Hipertensão, n (%)	38 (76%)	18 (72%)	0,7
Diabetes melito, n (%)	13 (26%)	8 (32%)	0,58
Dislipidemia , n (%)	31 (62%)	18 (72%)	0,39
Tabagismo, n (%)	35 (70%)	19 (76%)	0,58
Apresentação clínica, n (%)			0,04
- Angina estável	41 (82%)	15 (60%)	
- Síndrome coronária aguda	9 (18%)	10 (40%)	
Nitratos, n (%)	18 (36%)	13 (52%)	0,185
Inibidores da ECA, n (%)	8 (16%)	1 (4%)	0,132
Betabloqueadores, n (%)	40 (80%)	20 (80%)	1
Bloqueadores dos canais de cálcio, n (%)	5 (10%)	5(20%)	0,102
Hipolipemiante oral, n (%)	45 (90%)	23 (92%)	1
Glicemia de jejum, mg/dl	115 $\pm$ 48,3	119 $\pm$ 46,2	0,74
Colesterol total, mg/dl	175 $\pm$ 49,8	169 $\pm$ 34,1	0,62
LDL, mg/dl	104 $\pm$ 39,5	99 $\pm$ 31,9	0,61
HDL, mg/dl	34,4 $\pm$ 9,4	33,1 $\pm$ 9,9	0,65
Creatinina, mg/dl	1 $\pm$ 0,17	0,95 $\pm$ 0,17	0,28

DP= desvio padrão, ECA= enzima conversora da angiotensina.

Na coorte submetida ao teste de vasomotricidade, as síndromes coronárias agudas predominaram como forma de apresentação clínica, 80% no grupo VestaSync e 70% no grupo VestaCor, sem diferença estatística entre ambos ($p=0,73$). Em relação às demais características clínicas e laboratoriais,

os pacientes deste subgrupo encontravam-se bem balanceados. Entretanto, a média do HDL no grupo VestaCor apresentou uma tendência a ser menor que a média do grupo VestaSync ($29,3 \pm 6,2$ vs. $36 \pm 7,7$, $p=0,06$), tabela 3.

Tabela 3 - Características clínicas e demográficas dos pacientes submetidos ao teste de reatividade vascular.

Variáveis	VestaSync (n=10)	VestaCor (n=10)	Valor de p
Idade (anos), média $\pm$DP	57,4 $\pm$ 9,4	63,9 $\pm$ 10,8	0,27
Gênero (masculino), n (%)	8 (80%)	6 (60%)	0,65
Hipertensão, n (%)	8 (80%)	7 (70%)	1
Diabetes Melito, n (%)	3 (30%)	2 (20%)	1
Dislipidemia , n (%)	8 (80%)	8 (80%)	1
Tabagismo, n (%)	8 (80%)	7 (70%)	1
Apresentação clínica, n (%)			0,73
- Angina estável	2 (20%)	3 (30%)	
- Síndrome coronária aguda	8 (80%)	7 (70%)	
Nitratos, n (%)	4 (40%)	4 (40%)	1
Inibidores da ECA, n (%)	2 (20%)	0 (0%)	0,48
Betabloqueadores, n (%)	10 (100%)	7 (70%)	0,74
Bloqueadores dos canais de cálcio, n (%)	2 (20%)	0 (0%)	0,48
Hipolipemiante oral, n (%)	10 (100%)	9 (90%)	1
Glicemia de jejum, mg/dl	127 $\pm$ 55,9	115 $\pm$ 39,6	0,64
Colesterol total, mg/dl	174 $\pm$ 44,5	167 $\pm$ 28,7	0,7
LDL, mg/dl	104,3 $\pm$ 40,8	104,5 $\pm$ 28,7	1
HDL, mg/dl	36 $\pm$ 7,7	29,3 $\pm$ 6,2	0,06
Creatinina, mg/dl	0,9 $\pm$ 0,19	0,8 $\pm$ 0,10	0,3

DP= desvio padrão, ECA= enzima conversora da angiotensina.

5.2 Características do procedimento

A maioria dos pacientes admitidos para o estudo apresentava doença em apenas um território coronariano (94% no grupo Vestasync e 96% no grupo Vestacor, $p=1$) e distribuição homogênea dos vasos tratados.

Figura 7 - Gráfico de distribuição das artérias tratadas segundo grupo de tratamento

A análise angiográfica dos vasos antes do procedimento demonstrou que o comprimento das lesões foi maior no grupo VestaCor ($13,70 \pm 4,10$ mm vs. $11,78 \pm 2,94$ mm, $p= 0,02$) e houve tendência a um menor diâmetro

luminal mínimo do vaso neste mesmo grupo ($0,8 \pm 0,35$ mm vs. $0,97 \pm 0,40$ mm, $p=0,07$). Os diâmetros de referências foram equivalentes em ambos os grupos, $3,03 \pm 0,30$ mm, para o grupo VestaSync, e $3,11 \pm 0,25$ mm para o VestaCor ($p=0,1$).

Tabela 4 - Resultados da Angiografia Coronária Quantitativa pré e pós-procedimento e no reestudo tardio

VARIÁVEIS[média (desvio-padrão) ou n (%)]	VestaSync (n = 50)	VestaCor (n=25)	P Value
Pré-procedimento			
Diâmetro de referência, mm	3,03 (0,30)	3,11 (0,25)	0,1
Extensão da lesão, mm	11,78 (2,94)	13,70 (4,10)	0,02
DLM, mm	0,8 (0,35)	0,97 (0,40)	0,07
Estenose, %	66,4 (8,75)	68,2 (9,34)	0,4
Pós-procedimento			
Diâmetro de referência, mm	$3,11 \pm 0,2$	$3,14 \pm 0,2$	0,5
DLM intra-stent, mm	$2,86 \pm 0,4$	$2,86 \pm 0,3$	0,9
Estenose intra-stent, %	$8,04 \pm 0,3$	$8,90 \pm 0,3$	0,9
Ganho agudo intra-stent, mm	$2,05 \pm 0,4$	$1,89 \pm 0,5$	0,2
Reestudo angiográfico 8 meses			
Diâmetro de referência, mm	$2,82 \pm 0,3$	$2,78 \pm 0,3$	0,6
DLM intra-stent, mm	$2,47 \pm 0,4$	$2,08 \pm 0,6$	0,006
Estenose intra-stent, %	$12,77 \pm 10,0$	$27,2 \pm 19,5$	0,002
Perda tardia intra-stent, mm	$0,39 \pm 0,3$	$0,78 \pm 0,6$	0,005
Reestenose binária, n (%)	1 (2%)	4 (16%)	0,02

DLM = diâmetro luminal mínimo.

Obteve-se sucesso do procedimento em todos os pacientes tratados. A pré-dilatação mandatória foi realizada em todos os pacientes do grupo VestaCor e em 48 pacientes do grupo VestaSync (100% vs 96%, $p=0.55$). A pós-dilatação foi realizada em 68% dos pacientes que receberam o stent VestaSync® e em 48% dos pacientes tratados por implante do stent VestaCor® ($p=0,08$).

Tabela 5 - Parâmetros relacionados ao procedimento de implante dos stents.

VARIÁVEIS média (desvio-padrão)	VestaSync n=50	VestaCor n=25	Valor de p
Pré-dilatação			
Diâmetro do balão, mm	2,74(0,51)	2,92(1,35)	0,41
Comprimento do balão, mm	13,6(2,44)	13,8(3,47)	0,76
Pressão, atm	8,2(2,9)	9,1(4,35)	0,32
Stent			
Diâmetro, mm	3,25(0,25)	3,28(0,25)	0,62
Comprimento do stent, mm	19(0)	19,36(3,6)	0,48
Pressão de liberação, atm	13,02(3,1)	13,76(3,6)	0,36
Pós-dilatação			
Diâmetro do balão, mm	3,40(0,36)	3,35(0,26)	0,70
Comprimento do balão, mm	12,5(2,48)	13,1(3,57)	0,50
Pressão, atm	18,8(3,0)	18,4(2,5)	0,67
Sucesso angiográfico, n(%)	50(100%)	25(100%)	1

A uniformidade na técnica de implante pode ser observada pela análise dos parâmetros do procedimento na tabela 5. As variáveis diâmetro e comprimento dos dispositivos e pressão de liberação foram homogêneas

entre os grupos. Ainda na tabela 4, nota-se que, imediatamente após o procedimento à análise angiográfica quantitativa, se pode notar que os diâmetros luminais mínimos intra-stent, porcentual de estenose intra-stent e ganho agudo foram equivalentes em ambos os grupos.

5.3 Reestudo angiográfico de oito meses

Os achados do reestudo angiográfico realizados no 8º mês de seguimento encontram-se sumarizados na tabela 4. A perda luminal tardia intra-stent foi de $0,39 \pm 0,3$ mm para o grupo VestaSync contra $0,78 \pm 0,6$ mm no grupo VestaCor ($p=0,005$). O diâmetro luminal mínimo foi maior no grupo VestaSync ($2,47 \pm 0,4$ mm vs. $2,08 \pm 0,6$ mm, $p= 0,006$) e o porcentual de estenose intra-stent, maior no grupo VestaCor ($12,77 \pm 10,0$ vs. $27,2 \pm 19,5$ mm, $p=0,002$). Estes resultados conferiram entres os pacientes alocados no grupo VestaSync uma taxa de reestenose binária significativamente menor que os do grupo VestaCor (2% vs. 16%, $p=0,02$).

5.3.1 Achados ultrassonográficos

Os achados da coorte de 45 pacientes submetida ao estudo ultrassonográfico intracoronário encontram-se descritos na tabela 6. Pacientes tratados pelo stent VestaSync® apresentaram redução relativa de 48% no volume de hiperplasia neointimal no segmento intra-stent em relação aos pacientes do grupo VestaCor ($15,4 \pm 10,9$ mm vs. $29,4 \pm 17,9$ mm, $p=0,01$) e no porcentual de obstrução dos stents nos pacientes do grupo VestaSync ($9,3 \pm 6,5\%$ vs. $17,6 \pm 9,4\%$, $p= 0,005$).

Tabela 6 - Análise seriada por ultrassom intracoronário: ao final do procedimento e aos 8 meses de seguimento

	VestaSync (n = 30)	VestaCor (n=15)	P Value
Volume do vaso, mm³			
Pós-procedimento	290,4 ± 104,1	309,7 ± 51,2	0,4
Reestudo	303,1 ± 92,5	311,8 ± 66,7	0,6
Valor de p	0,6	0,9	
Volume do stent, mm³			
Pós-procedimento	166,9 ± 59,4	165,1 ± 58,5	0,9
Reestudo	168,2 ± 51,1	166,1 ± 45,3	0,9
Valor de p	0,9	0,9	
Volume da luz, mm³			
Pós-procedimento	164,8 ± 60,9	164,8 ± 58,5	1,0
Reestudo	152,9 ± 49,4	136,5 ± 40,7	0,2
Valor de p	0,4	0,1	
Volume de hiperplasia intimal, mm³	15,4 ± 10,9	29,4 ± 17,9	0,01
Porcentual de hiperplasia intimal, %	9,3 ± 6,5	17,6 ± 9,4	0,005
Má-aposição aguda do stent, n (%)	2 (4%)	3 (12%)	0,2
Má-aposição do stent no reestudo, n (%)			
Persistente	0	0	-
Resolvida	2 (4%)	3 (12%)	0,2
Adquirida	1 (2%)	0	-

Quando observamos a distribuição dos percentuais de obstrução neointimal, nota-se que, no grupo VestaSync, há um desvio para a esquerda e grande parte dos valores situados abaixo de 20%; no grupo VestaCor, a distribuição é mais heterogênea.

Figura 8 - Distribuição percentual da obstrução neointimal de acordo com o stent utilizado. Observa-se uma redução significativa do percentual da hiperplasia neointimal no grupo de pacientes tratados por implante do stent farmacológico (VestaSync®). $p=0,005$

5.4 Desfechos clínicos

Foram obtidas informações referentes ao seguimento clínico de todos os pacientes por um período de até 24 meses. A ocorrência de eventos adversos maiores foi baixa e comparável (4% vs 12%, $p=ns$), para os grupos VestaSync e VestaCor ($p=ns$). O óbito verificado no grupo VestaCor não teve relação com o dispositivo implantado e foi provocado por neoplasia maligna.

Tabela 7 - Evolução clínica intra-hospitalar e aos 12 meses

	VestaSync (n = 50)	VestaCor (n=25)
Intra-hospitalar		
Morte	0	0
IAM não fatal	1 (2%)	0
Revascularização da lesão-alvo	0	0
Trombose do stent	0	0
12 meses de seguimento (não cumulativo)		
	0	1 (4%)*
Morte	0	0
IAM não fatal	1 (2%)	1 (4%)
Revascularização da lesão-alvo	0	0
Trombose do stent		
Total (cumulativo)	2 (4%)	2 (8%)
Morte	0	1 (4%)*
IAM não fatal	1 (2%)	0
Revascularização da lesão-alvo	1 (2%)	1 (4%)
Trombose do stent	0	0

IAM = infarto agudo do miocárdio

* Morte não cardíaca por câncer. Todas as comparações não atingem significância estatística.

5.5 Teste de vasomotricidade

A realização do teste de vasomotricidade coronariana estava prevista em 20 pacientes durante o reestudo angiográfico previsto para o 8º mês. Um paciente que estava alocado no grupo VestaCor foi a óbito e, consequentemente, 19 pacientes permaneceram compondo esta amostra.

5.5.1 Dados hemodinâmicos

Houve elevação gradual da frequência cardíaca em concordância com o predito pela metodologia proposta. Não houve diferença significativa entre os grupos quanto aos valores da frequência cardíaca atingidos em cada fase do estímulo. As médias da pressão arterial sistólica e do duplo produto foram comparáveis entre pacientes de ambos os grupos, entretanto, a média da pressão arterial diastólica na frequência cardíaca máxima foi maior no grupo VestaSync em relação ao VestaCor (107,5 mmHg vs. 88 mmHg, $p=0,05$).

Tabela 8 - Variação hemodinâmica durante o teste de vasomotricidade

Fase	Grupo		
	VestaSync	VestaCor	Valor de p
Basal			
Pressão arterial sistólica	157,5	164	0,78
Pressão arterial diastólica	87,5	85	0,33
Frequência cardíaca	73,5	72	0,62
Duplo Produto	11.648	11.152	0,62
Estímulo 1			
Pressão arterial sistólica	157	150	0,81
Pressão arterial diastólica	91	85	0,33
Frequência cardíaca	93	95	0,93
Duplo Produto	14.704	14.110	0,57
Estímulo 2			
Pressão arterial sistólica	144,5	145	0,78
Pressão arterial diastólica	100	85	0,05
Frequência cardíaca	113	110	0,74
Duplo Produto	16.644	15.410	0,19
continua			

continua.

Continuação.

Fase	Grupo		
	VestaSync	VestaCor	Valor de p
Freq. Máxima			
Pressão arterial sistólica	139,5	137	0,71
Pressão arterial diastólica	107,5	88	0,05
Frequência cardíaca	150	145	0,34
Duplo Produto	21.001	19.950	0,44

* Valores representados em medianas, comparados através do método de Kruskal-Wallis.

Figura 9 - Exemplo de traçados de pressões e eletrocardiograma obtidos durante o repouso e fases sucessivas da estimulação atrial por marcapasso. No detalhe, espículas do marcapasso durante a frequência máxima

5.5.2 Resposta vasomotora coronariana

A análise da vasomotricidade consistiu na medida por angiografia quantitativa seriada do diâmetro médio das bordas proximal e distal e do segmento controle no repouso, ao final de cada momento de estímulo e após infusão de nitroglicerina. Foram comparadas as variações intergrupos (VestaSync ou VestaCor) entre segmentos arteriais distintos (bordas proximal e distal *versus* vaso controle) e intragrupo comparando as variações no mesmo local (borda proximal, distal e vaso controle).

Figura 10 - Exemplo de angiografia coronária nas fases do teste de vasomotricidade. Alterações na borda do stent estimadas por programa de angiografia quantitativa coronária

5.5.2.1 Resposta do grupo VestaSync

O diâmetro arterial médio nas bordas do stent apresentou reduções sucessivas quando medido nos diferentes momentos do teste. A maior redução foi observada no pico da estimulação contra o valor do repouso,

sendo de $2,66 \pm 0,25$ mm para $2,46 \pm 0,25$ mm ($p= 0,02$) para a borda proximal e de $2,29 \pm 0,42$ mm para $2,11 \pm 0,44$ mm ($p= 0,02$) para a borda distal. A média destas reduções foi de $-8,39 \pm 8,24$ % para a borda proximal e $-8,9 \pm 9,90$ % para a borda distal, mostrando clara resposta vasoconstrictora nestes locais.

Tabela 9 - Análise por angiografia coronária quantitativa das bordas proximal e distal dos stents por grupo, em três momentos: frequência cardíaca basal, frequência cardíaca máxima e após aplicação intracoronária de nitroglicerina

	Proximal		Distal	
	VestaSync (N=10)	VestaCor (N=9)	VestaSync (N=10)	VestaCor (N=9)
Repouso	2.66 ± 0.25	2.85 ± 0.38	2.29 ± 0.4	2.53 ± 0.37
Freq. Máxima	2.49 ± 0.25	2.63 ± 0.44	2.19 ± 0.36	2.34 ± 0.41
Variação (%)	-8.12 ± 7.7	-7.72 ± 9.17	-6.52 ± 6.5	-10.47 ± 6.3
Pós-nitro	2.66 ± 0.27	2.86 ± 0.28	2.34 ± 0.47	2.61 ± 0.5

Representados diâmetros luminais médios como média e respectivos desvios-padrões.

Após a administração intracoronária de nitroglicerina, foi observada vasodilatação. Houve aumento dos diâmetros em relação aos valores obtidos no pico do estímulo, tanto na borda proximal ($2,49 \pm 0,25$ mm vs. $2,66 \pm 0,27$ mm, $p=0,02$) quanto na borda distal ($2,29 \pm 0,42$ mm vs. $2,34 \pm 0,47$ mm, $p=0,03$).

O vaso controle manteve o diâmetro médio estável independente da taquicardia induzida e, mesmo após a administração de nitroglicerina, não houve um incremento significativo no diâmetro médio deste segmento.

Foram comparados os achados intragrupo, a média das variações do diâmetro para a borda proximal (média [intervalo de confiança]) foi de $-7,05$ % ($-1,51$ % até $-12,58$), para a borda distal $-9,17$ % ($-2,09$ % até $-16,25$ %) e para o segmento controle $-0,73$ % ($-2,86$ % até $4,33$ %). Estes valores atingiram significância estatística para a diferença entre a borda distal e o

segmento controle ($p=0,02$), mas não entre a borda proximal e o segmento controle ($p=0,11$), tampouco entre as bordas proximal e distal ($p=1,0$).

Figura 11 - Variação do diâmetro médio das artérias coronárias submetidas a implante de stents VestaSync® em função do estímulo aplicado. Nota-se variação negativa nas bordas do stent com o aumento da frequência de estímulo. Variáveis descritas em média e respectivos erros-padrões.

5.5.2.2 Resposta do grupo VestaCor

Os segmentos arteriais alvo do implante do stent apresentaram resposta de vasoconstrição nas bordas com caráter frequência-dependente. A média dos diâmetros após estimulação máxima apresentou redução em relação à média dos diâmetros no repouso, tanto na borda proximal ($2,85 \pm 0,38$ mm vs. $2,63 \pm 0,44$ mm, $p=0,03$), quanto na borda distal ($2,53 \pm 0,37$ mm vs. $2,34 \pm 0,41$ mm, $p=0,02$). A redução percentual atingiu $-8,93 \pm 10,44$ para a borda proximal e $-8,67 \pm 8,58$ para a borda distal.

Após administração de nitroglicerina, percebe-se um aumento no diâmetro médio em relação ao valor do pico do esforço na borda proximal ($2,86 \pm 0,27$ mm vs. $2,63 \pm 0,44$ mm, $p=0,04$), assim como na borda distal ($2,34 \pm 0,40$ mm vs. $2,61 \pm 0,49$ mm, $p=0,001$), que retornam aos valores de repouso.

No segmento controle, as diferenças das médias dos diâmetros aferidos no repouso e durante a frequência máxima de estimulação apontam

para um incremento com média de $0,5 \pm 0,11$ mm, que não alcançam significância estatística ($p=0,19$).

A média das variações do diâmetro foi de -9,28% (-17,31; -1,26%) para a borda proximal, -8,54% (-16,06%; 1,02) para a borda distal e 1,8% (-1,5%; 5,16%) para o segmento-controle. Estes valores foram significativamente diferentes entre si após comparações múltiplas ($p=0,011$), com significância tanto para a comparação da borda proximal com o segmento-controle ($p=0,025$), quanto para a comparação da borda distal com o segmento controle ($p=0,028$), mas não para a comparação entre as bordas proximal e distal ($p=1,0$).

Figura 12 - Variação do diâmetro médio de artérias coronárias submetidas a implante de stents VestaCor® em função do estímulo aplicado. Houve redução contínua do diâmetro arterial médio das bordas dos stents, derivada do aumento da frequência de estímulo. Variáveis descritas em média e respectivos erros-padrões. 6.5.2.3 Comparação entre os grupos VestaSync e VestaCor

A estimativa dos efeitos vasomotores em cada borda e segmento controle já foi descrita na seção prévia, em forma de média e intervalo de confiança das variações do diâmetro médio. A comparação pareada entre os grupos tratados (VestaSync ou VestaCor), utilizando o teste ANOVA, não mostrou diferenças estatísticas para as bordas proximais ($p=0,83$), bordas distais ($p=0,73$) e segmentos-controle ($p=0,63$), assumindo que a hipótese nula, que previa igualdade de resposta vasomotora, não pode ser rejeitada.

Na fig. 12, o comportamento do diâmetro no repouso e no estímulo máximo está demonstrado por indivíduo e pela média dos grupos. Nota-se que as retas representativas das médias das variações apresentam inclinações concordantes, ilustrando a igualdade das mesmas. Da mesma forma, a representação gráfica por *boxplot* (fig. 13) permite-nos avaliar a concordância entre os grupos a respeito das medianas e intervalos interquartílicos das variações dos diâmetros médios.

Diâmetro médio - Borda proximal

Diâmetro médio - Borda distal

Figura 13 - Representação gráfica da variação individual do diâmetro arterial médio do vaso entre o repouso e frequência cardíaca máxima. Comparação entre os segmentos analisados por grupo tratado. Valores em mm.

Figura 14 - Representação da comparação entre os grupos da mediana das variações do diâmetro médio do vaso nas bordas proximal e distal e no segmento-controle

5.5.3 Correlação entre perda tardia e função endotelial

Foi investigada a correlação entre perda tardia e a variação do diâmetro médio da artéria. O gráfico de dispersão pode ser visto abaixo. Os resultados obtidos mostram associações fracas para os grupos VestaCor ($r=0,17$; $p=0,61$) VestaSync ($r=-0,24$; $p=0,38$) e o grupo global ($r=0,3$; $p=0,89$), que agrupava os dois grupos anteriores em um só. Os valores encontrados não foram estatisticamente significativos. Fig. 14

Figura 15 - Gráfico de dispersão da variação de diâmetro da borda distal em função da perda tardia.

6 Discussão

Considerações preliminares

A principal contribuição deste estudo foi a demonstração que a eluição de doses baixas de sirolimus, liberado a partir de uma plataforma não polimérica, mantém a eficácia na prevenção da reestenose, sem que isto acarrete em agravamento na disfunção endotelial decorrente da intervenção coronária percutânea.

Esta análise representou uma oportunidade inédita para o conhecimento *in vivo* dos efeitos do sirolimus sobre o endotélio de artérias coronárias humanas. A utilização de plataformas idênticas permitiu o equilíbrio entre os grupos, do efeito de variáveis como espessura das hastes e desenho do stent. Da mesma forma, a ausência de polímero excluiu a possibilidade de agravo adicional deste componente à parede vascular. Adicionalmente, neste trabalho apresentam-se dados sobre o comportamento do endotélio coronariano após implante de stents farmacológicos não-poliméricos, que nunca haviam sido estudados.

Por outro lado, o desenho randomizado, poucas vezes utilizado em estudos de função endotelial, proporcionou o balanceamento dos grupos sobre variáveis clínicas e angiográficas, que poderiam influenciar nos resultados. A avaliação de segmentos coronários controles permitiu inferências sobre a disfunção endotelial sistêmica existente, evitando a suposição de que uma desigualdade entre os grupos pudesse afetar os resultados do teste de vasomotricidade.

Eventos Clínicos

Um baixo número de eventos adversos clinicamente relevantes foi verificado em ambos os grupos, sem diferenças estatísticas significantes. O cálculo amostral não permite esta comparação, portanto para a análise destes desfechos um estudo envolvendo uma maior casuística terá que ser conduzido.

Análise da eficácia

A análise da eficácia do stent farmacológico VestaSync[®] foi realizada através da comparação, com o grupo controle, de parâmetros angiográficos e ultrassonográficos. Foi observada perda tardia significativamente menor no grupo VestaSync ($0,39 \pm 0,3$ mm vs. $0,78 \pm 0,6$ mm, $p=0,005$). Estes valores de perda tardia são semelhantes aos observados com o stent *Taxus*[®], que apresentam perda tardia variando entre 0,30 mm e 0,40 mm. Entretanto, esta perda tardia é superior aos valores obtidos pela maioria dos stents com eluição de fármacos da família "limus", cuja perda tardia oscila ao redor de 0,14 mm.⁴¹⁻⁴³

Stents não-poliméricos exibem uma capacidade distinta de inibição da hiperplasia. Lansky et al relataram que stents não-poliméricos com eluição de paclitaxel exibem perda tardia de 0,81 versus 0,98mm de stents convencionais ($P=0,003$). O *Yukon*[®], um stent não-polimérico com superfície microporosa e eluição de sirolimus, foi comparado ao stent *Taxus*[®] e observada equivalência em relação à perda tardia ($0,48 \pm 0,61$ mm vs. $0,48 \pm 0,58$ mm; $p=0,98$). No estudo ISAR-TEST-2 foram comparados os stents *Cypher*[®] e *Endeavor*[®] a um stent não-polimérico com eluição de probucol e sirolimus(stent *Dual*[®]). A perda tardia foi significativamente menor no grupo tratado pelo stent *Dual*[®] que no grupo tratado pelo stent *Endeavor*[®] ($0,23 \pm 0,50$ mm vs. $0,58 \pm 0,55$ mm; $p < 0,001$) e igual a dos pacientes tratados pelo stent *Cypher*[®] ($0,24 \pm 0,51$ mm; $p=0,78$). A perda tardia observada para o nosso grupo VestaSync ($0,39 \pm 0,3$ mm) encontra-se próxima àquelas dos melhores stents sem polímero.⁴⁴⁻⁴⁶

Da mesma forma, a análise dos achados do ultrassom intracoronário reflete a ação eficaz do agente antiproliferativo. No estudo RAVEL⁴⁷, o stent *Cypher*[®] apresentou volume de obstrução de 1 ± 3 %. Os números exibidos pelo stent VestaSync[®] o posicionam mais próximo do comportamento do stent *Taxus*[®] que apresenta porcentual de obstrução de $12,2 \pm 12,4\%$ e o distanciam dos stents convencionais, cujo porcentual de obstrução atinge 30%. A má-aposição das hastes aos oito meses foi observada em um

paciente do grupo VestaSync (2%), este resultado é compatível com números exibidos para stents convencionais.⁴⁸

A última análise realizada comparou a perda tardia à magnitude da variação do diâmetro da borda distal após a estimulação, isto é, à vasomotricidade. Sabe-se que a presença de disfunção endotelial sistêmica está associada ao aumento na incidência de reestenose após implante de stents. Não existem dados sobre este efeito da disfunção endotelial coronária após intervenção percutânea. Em um estudo com angioscopia, Takano et al.⁴⁹ descreveram que a maior perda tardia não está relacionada a baixo risco de trombose de stent. Kim et al.⁵⁰ demonstraram que há correlação entre perda tardia maior que 0,55 mm e recobrimento endotelial das hastes, porém correlação ausente em valores menores de perda tardia. A ausência de correlação aqui observada pode estar associada à baixa perda tardia dos stents ou ainda, que esta variável não é um boa discriminadora de risco como a função endotelial se insinua.

Métodos utilizados para teste de vasomotricidade coronária

A avaliação da função endotelial nas artérias coronárias é realizada, na maioria dos estudos, através da análise da resposta a estímulos vasomotores. A infusão diretamente no vaso de agonistas endoteliais como acetilcolina ou bradiginina ou a dilatação mediada pelo aumento de fluxo ou por aumento das forças de cisalhamento, que leva à liberação de óxido nítrico por células endoteliais normofuncionantes, são as estratégias mais utilizadas. O primeiro estudo da função endotelial em humanos, realizado por Ludmer et al.⁵¹ em 1986, utilizou-se de infusões intracoronárias de soluções com concentrações crescentes de acetilcolina para observar que, artérias coronárias com lesões obstrutivas, paradoxalmente apresentavam significativa vasoconstricção após o estímulo. O grupo controle era composto por pacientes com padrão angiográfico normal e apresentou vasodilatação, a resposta fisiológica esperada.

Posteriormente, Gordon et al⁵² demonstraram que pacientes portadores de coronariopatia, apresentavam vasoconstricção paradoxal nas artérias coronárias, em resposta ao aumento de fluxo sanguíneo ocasionado por exercício físico. Um grupo de pacientes neste estudo foi submetido à infusão de acetilcolina para comparação da resposta com a determinada pelo exercício. Houve concordância nos resultados obtidos entre os dois métodos, tanto em artérias com doença obstrutiva ou em artérias normais. A utilização do Doppler, para mensurar a variação do fluxo coronário, e do ultrassom intracoronário, para medida da variação da área luminal, em resposta à infusão de acetilcolina foram incorporadas e tornaram-se desejáveis para a realização do método.⁵³

A resposta endotelial após a intervenção coronária foi relatada por Caramori et al²⁶ utilizando a infusão coronária de acetilcolina. Dilatação mediada por fluxo, induzida por exercício físico, foi o método escolhido por Togni e cols.²⁹ para avaliar a alteração na vasomotricidade arterial pós-implante de stents farmacológicos. Em ambos os estudos, os diâmetros arteriais foram medidos exclusivamente por angiografia coronária quantitativa.

A estimulação atrial por marcapasso como método substituto do exercício físico tem sua aplicação conhecida nos laboratórios de hemodinâmica desde 1927, como pesquisa de isquemia⁵⁴. Nabel et al⁵⁵ em 1990, utilizaram esta metodologia para testar de vasomotricidade mediada por fluxo e Gossinger et al⁵⁶ em 1991, para estudo da liberação de fatores fibrinolíticos por células endoteliais. Finalmente, Hamilos et al³⁸ validaram este método para estudos da vasomotricidade coronariana em pacientes submetidos previamente ao implante de stents.

Não há uma clara definição sobre qual dos métodos de avaliação deve recair a escolha para o exame. Comparação entre fármacos que apresentam ação sobre a vasodilatação dependente do endotélio foi testada por Pérez de Prado et al⁵⁷. A infusão intracoronária de acetilcolina determina maior vasoconstricção que serotonina intracoronária ou isoproterenol intravenoso. A infusão de acetilcolina pode promover vasoconstricção por

efeitos diretos do fármaco sobre as células musculares lisas, em casos de aumento da permeabilidade do endotélio, sem que isso traduza conceitualmente ausência ou imaturidade de células endoteliais. De outro modo, a vasodilatação promovida pelo aumento do fluxo sanguíneo induzido por exercício ou estimulação por marcapasso, se faz dentro de princípios mais fisiológicos, por liberação de óxido nítrico em resposta ao aumento das forças de cisalhamento, observando-se vasoconstrição somente em estados patológicos que determinem depleção deste fator. Desta forma, optou-se pela estimulação atrial com marcapasso como método de análise da vasomotricidade coronária no presente estudo.^{55,58}

Resposta ao teste de vasomotricidade coronariana

Neste estudo foi observado que, oito meses após o implante, a vasomotricidade dependente do endotélio apresentava comportamento semelhante nas bordas de stents farmacológicos ou não-farmacológicos. Ao contrário do que se poderia supor, a resposta equivalente entre os grupos no nosso estudo refletiu a presença de disfunção endotelial associada a presença de stents, quer farmacológicos ou convencionais. A vasodilatação independente do endotélio, observada após a administração de nitroglicerina intracoronária, esteve preservada igualmente em ambos os grupos.

A presença de disfunção endotelial nas bordas de vasos tratados por stents convencionais foi observada previamente por Caramori et al ²⁶ e por van Beusekon et al ⁵⁹. Estes achados podem relacionar-se ao maior trauma e resposta inflamatória causado pelo dispositivo e consequente recobrimento endotelial inadequado. Entretanto, Maier et al ²⁷ observaram que a vasomotricidade, nas bordas de stents convencionais, encontrava-se preservada. Teoricamente, poderia ser esperado que a plataforma metálica com cobertura de hidroxiapatita pudesse apresentar um perfil de maior biocompatibilidade e isto refletir numa preservação da função endotelial, entretanto, esta resposta não pode ser observada neste modelo.

A amostra aqui estudada aproximou-se do mundo real da intervenção. Os pacientes não foram selecionados quanto à variáveis clínicas que estão ligadas à disfunção endotelial sistêmica. Foram incluídos diabéticos (30%), hipertensos (80%), dislipidêmicos (80%), tabagistas (70%) e predominaram as síndromes coronárias agudas como forma de apresentação (80%). Este perfil de alto risco clínico pode ter consequências na reparação vascular pós-intervenção. Desta forma, afirmar maior ou menor grau de disfunção endotelial induzida por esta plataforma sem fármaco, utilizando-se como comparadores outros estudos envolvendo stents convencionais, não nos parece adequado.^{26,59-61}

Estudos experimentais demonstram que a ação direta do sirolimus pode gerar endotélio disfuncionante. Jabs et al⁶² observaram que o tratamento contínuo com sirolimus causa, em ratos, severa disfunção vascular e resistência ao nitrato, mediadas pela produção aumentada de superóxidos. Bruns et al⁶³ relacionam ao sirolimus facilitação à liberação de endotelina que causa um desequilíbrio nas forças vasoconstrictoras e vasodilatadores do endotélio.²⁸

De forma análoga, Obata et al³⁰ relatam disfunção endotelial em pacientes tratados na fase aguda do infarto do miocárdio por implante de stents com eluição de sirolimus quando comparados a pacientes tratados por implante de stents convencionais. Neste mesmo estudo, foram colhidas amostras de sangue na veia ventricular anterior e na aorta, e verificada a presença de sirolimus pelo menos duas semanas após o implante do stent. O fator de crescimento vascular do endotélio foi mensurado em níveis menores nas amostras colhidas na veia ventricular anterior que nas amostras colhidas na aorta. Estes fatos apontam para o fato que o fármaco pode, por muitos mecanismos, gerar uma resposta inadequada do vaso a estímulos vasomotores endotélio-dependentes.

A resposta endotelial varia de acordo com o dispositivo implantado. Estudo experimental conduzido por Joner et al demonstra que o recobrimento endotelial, 14 dias após o implante em artérias de coelhos, é menor sobre os stents Cypher que sobre stents com eluição de everolimus

ou stents convencionais (30% vs. 70%, $p=0,003$). A expressão da molécula de adesão celular plaquetária foi correspondentemente menor no endotélio que revestia stents Cypher, evidenciando que a este menor recobrimento associava-se também um maior grau de imaturidade endotelial.⁶⁴

Estudos clínicos comparando a vasomotricidade de stents farmacológicos de primeira geração a stents convencionais ou a stents farmacológicos de segunda geração, encontram-se resumidos na tabela 10. Pode-se observar que, em nenhuma das séries, houve similaridade de comportamento do stent com eluição de sirolimus e stents convencionais. Entre stents farmacológicos há diferenças quanto aos efeitos causados à vasomotricidade dos segmentos adjacentes ao implante.

O estudo de Hamilos et al.⁶⁵ faz comparação não-randomizada da função endotelial de artérias coronárias, na fase tardia do implante de stents convencionais ou diversos stents com eluição de medicamentos: sirolimus, zotarolimus, biolimus, paclitaxel. Stents farmacológicos de primeira geração, com sirolimus ou paclitaxel, estiveram associados a maior vasoconstrição nas bordas durante estímulo com marcapasso. Stents com biolimus ou zotarolimus apresentaram comportamentos análogos aos stents convencionais.

Kim et al.⁶⁶ apresentaram estudo prospectivo e randomizado entre pacientes submetidos a implante de stents com eluição de zotarolimus ou sirolimus (de primeira geração). A função endotelial foi avaliada 6 meses após o implante por infusão de acetilcolina. Foi observada vasoconstrição significativamente maior nas bordas dos stents com sirolimus, sugerindo que a mudança na função endotelial poderia ser diferente de acordo com o stent implantado.

No presente estudo, foi utilizado stent com doses reduzidas de sirolimus (55µg) se comparadas às utilizadas no stent Cypher (111 µg). Sabemos que a distribuição do fármaco *in vivo* na parede vascular pode ser afetada por muitas variáveis como a complexidade da lesão, porém *in vitro*, as curvas de eluição de stents VestaSync e Cypher apresentam liberação de doses equivalentes durante a primeira hora pós-intervenção. Nas horas

subsequentes, a quantidade de fármaco liberada pelo stent VestaSync equivale à metade da liberada pelo Cypher até que, ao final de 3 a 4 semanas, há liberação de todo o conteúdo do stent VestaSync. Este perfil farmacológico potencialmente mais seguro, pode justificar que o stent VestaSync apresente um comportamento vasomotor nas artérias coronárias, semelhante ao observado após o uso dos stents convencionais VestaCor, sem mencionar a ausência de polímero.^{37,67,68}

Hipersensibilidade tardia e inflamação crônica fazem parte das fisiopatologias da disfunção endotelial e trombose dos stents farmacológicos. (69) A ausência de polímero nos stents testados reduz a possibilidade destas reações verificadas por Virmani et al⁷⁰, com o uso de polímeros duráveis. Por outro lado, a reabsorção da cobertura de hidroxiapatita permitiu que, no momento do teste de vasomotricidade, restassem somente as plataformas metálicas convencionais dos stents VestaSync e VestaCor. Desta forma, demonstrar vasomotricidade coronária no grupo VestaSync comparável ao grupo VestaCor, sugere, de forma inédita, ausência de efeitos deletérios tardios da eluição do sirolimus sobre as células endoteliais.

Impacto clínico da disfunção endotelial induzida pela intervenção coronária

Ilacões a respeito da utilidade clínica da prova de função endotelial após intervenção baseiam-se no fato de que a presença de disfunção endotelial associa-se a eventos cardíacos maiores mesmo na ausência de doença aterosclerótica significativa, segundo Suwaldi et al⁷¹. Por outro lado, Lavi et al⁷² demonstraram, utilizando histologia virtual, que a disfunção endotelial associa-se mais à instabilidade da placa que à presença da mesma. Analisando segmentos arteriais coronários com mínima carga de placa aterosclerótica e com vasoconstrição paradoxal após infusão de acetilcolina, notaram menor luz (7.5 ± 2.4 mm vs. 8.8 ± 3.3 mm², $p = 0.006$), maior carga de placa ($37.1\% \pm 9.4\%$ vs $31\% \pm 7\%$, $p = 0.003$) e placas com maiores núcleos necróticos [0.13 (0.03 – 0.33) mm² vs 0.0 (0.0 – 0.07);

p=0.001] nestes segmentos que nos segmentos com resposta endotelial preservada.

Segundo Fuji et al ⁷³ a má cobertura endotelial das hastes de stents farmacológicos com eluição de zotarolimus associa-se a presença de vasoconstrição paradoxal após infusão de acetilcolina. Estes achados permitem, pela primeira vez, que a disfunção endotelial seja vinculada a um fator anatômico que tem associação estabelecida com a trombose tardia dos stents.

Ainda carece de evidências clínicas, a associação entre trombose e disfunção endotelial. Porém, quando observamos o estudo Leaders ⁷⁴, nota-se que pacientes tratados por implante de stents com eluição do biolimus apresentaram eficácia na prevenção da reestenose comparável aos pacientes tratados por implante de stents Cypher. Entretanto, em segmento de 4 anos, o grupo Biolimus esteve associado à menor risco relativo de trombose tardia ou muito tardia de stents que o grupo Cypher (RR 0.20, 95% CI 0.06-0.67, p=0.004). Não por coincidência, Hamilos et al (38) (38, 65) encontraram diferenças significantes entre a função endotelial estudada após o implante em artérias coronárias destes dois stents. Stents com eluição de biolimus apresentam preservação da vasodilatação mediada por fluxo, ao contrário de artérias coronárias tratadas por stents Cypher, onde há marcada vasoconstrição. Neste contexto, definitivamente há lugar para incorporação da prova de função endotelial como desfecho substituto de segurança, durante a pesquisa de novos stents. Entretanto, para a utilização do teste como discriminador individual das chances de trombose tardia de stent, ainda é necessária uma maior compreensão acerca da interação dos fatores que influenciam nos resultados do teste, sejam eles clínicos ou metodológicos.⁷⁵

Intervenções terapêuticas sobre a função endotelial

Inúmeras intervenções foram utilizadas com sucesso na reversão do quadro de disfunção endotelial em pacientes portadores de coronariopatia entre estas exercícios físicos, uso de estatinas, inibidores da enzima

conversora de angiotensina e suplementação por L-arginina . No âmbito da disfunção endotelial causada pela intervenção coronária, apenas o uso de pioglitazona foi testado. Kitahara et al demonstraram em estudo randomizado que a administração desta droga, para pacientes não-diabéticos, foi capaz de diminuir a vasoconstrição induzida por acetilcolina na borda distal de stents com eluição de sirolimus.⁷⁶

A pesquisa de novos dispositivos pode definitivamente proporcionar à intervenção coronária uma ferramenta terapêutica ideal, atuando na fase aguda do tratamento e promovendo a regeneração biológica do vaso. Stents que promovem captura de células progenitoras endoteliais da circulação vêm sendo testados e têm demonstrado rápida endotelização, hiperplasia neointimal baixa e pouca má-aposição tardia⁷⁷. Uso de stents biologicamente ativos com revestimento de titânio-óxido nítrico associou-se a menor incidência de trombose 12 meses após implante em pacientes com infarto agudo do miocárdio, se comparados a pacientes tratados por stent TAXUS (0,9% vs 4,3%, $p=0,003$)⁷⁸. Stents com plataforma não-polimérica ainda não tinham sido testados quanto ao efeito sobre a função endotelial. Confirmados os resultados aqui apresentados, esta alternativa pode-se constituir em uma abordagem mais segura para eluição de drogas.⁷⁹

Atualmente encontram-se em estudos clínicos algumas destas plataformas. Serruys et al⁸⁰ relataram os resultados angiográficos de 56 pacientes submetidos a implante de dispositivos de suporte vascular absorvíveis, com eluição de everolimus, ABSORB VS. A perda tardia encontrada (0.27 ± 0.32 mm) é compatível à demonstrada por com stents farmacológicos. Um sub-estudo da vasomotricidade foi realizado em 19 pacientes. Houve vasoconstrição em 10 pacientes e vasodilatação somente em 8. Posteriormente, Brugaleta et al compraram a resposta desta mesma coorte, após infusão de acetilcolina aos 12 meses (18 pacientes) e 24 meses (8 pacientes), correlacionando com achados de histologia virtual⁸¹. A reparação da função endotelial está associada à reabsorção das hastes poliméricas com o tempo e a vasoconstrição relacionada à maior área do vaso, maior carga de placa e principalmente à maior núcleo necrótico, em

concordância com achados de Lavi et al ⁷² descritos anteriormente para artérias não submetidas à intervenção. Desta forma, entende-se que dispositivos com maior biocompatibilidade podem ser o primeiro grande passo desta revolução.

Tabela 10 - Principais estudos da vasomotricidade coronariana após implante de stents farmacológicos.

Autor	Ano	Método	Stents Testados	N	Seguimento	Vasomotricidade
Togni et al ²⁹	2005	Exercício	<i>Cypher</i> ®. Convencional	14 11	6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Hofma et al ²⁸	2006	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® Convencional	7 5	6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Togni et al ⁸²	2007	Exercício	<i>Taxus</i> ® Convencional	15 12	6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Fuke et al ⁷³	2007	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® Convencional	21 12	6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Shin et al ⁸³	2007	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® <i>Taxus</i> ® Convencional	9 8 5	6, 9 meses	vasoconstrição maior em ambos os grupos farmacológicos
Obata et al ³⁰	2007	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® Convencional	13 16	2 semanas	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Hamilos et al ⁶⁵	2008	Marcapasso	<i>Cypher</i> ® <i>Biomatrix</i> ®	15 19	9 meses	vasoconstrição maior grupo <i>Cypher</i>
Hamilos et al ³⁸	2008	Marcapasso	<i>Cypher</i> ® <i>Taxus</i> ® <i>Endeavor</i> ® <i>Biomatrix</i> ® Convencional	17 10 9 23 12	9, 12 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico <i>Cypher</i> e <i>Taxus</i>
Shin et al ⁸⁴	2008	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® <i>Endeavor</i> ®	12 11	6, 9 meses	vasoconstrição maior grupo <i>Cypher</i>
Kim et al ⁶⁶	2008	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® <i>Endeavor</i> ® Convencional	19 19 9	6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico
Obata et al ⁸⁵	2009	Acetilcolina	<i>Cypher</i> ® Convencional	15 18	2 semanas, 6 meses	vasoconstrição maior grupo farmacológico

7 Conclusões

A análise dos resultados deste estudo prospectivo, randomizado e duplo-cego nos permitiram as seguintes conclusões:

1. Ao final de oito meses de seguimento, houve disfunção endotelial nos vasos tratados com stents com revestimento cerâmico em ambos os modelos, farmacológico e não-farmacológico
2. A eluição de baixas doses de sirolimus, a partir de stents não-poliméricos e com revestimento cerâmico, não agravou a disfunção endotelial.
3. Stents farmacológicos foram eficazes na redução da perda luminal tardia em relação ao grupo controle composto de stents com idêntica plataforma não-polimérica e sem fármaco
4. A análise por ultrassom intracoronário aos oito meses, demonstrou que stents não-poliméricos com eluição de sirolimus apresentam capacidade de suprimir a hiperplasia intimal de forma significativa, em relação ao stent-controle não-polimérico e não farmacológico.
5. Não houve diferenças em relação a eventos clínicos entre pacientes tratados por stents não-poliméricos nas versões farmacológica ou convencional, após 12 meses de seguimento.

Anexo

ANEXO A – FLUXOGRAMA DE ESTUDO

Referências Bibliográficas

1. Duncan B SA, Iser B, Malta D, Azevedo e Silva G, Schmidt M. Saúde Brasil 2010: uma análise da situação da saúde e de evidências selecionadas de impacto de ações de vigilância em saúde. In: Saúde SdVe, editor.: Ministério da Saúde do Brasil; 2011.
2. Schmidt MI, Duncan BB, Azevedo e Silva G, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet*. 377(9781):1949-61. Epub 2011/05/13.
3. Roger VL, Go AS, Lloyd-Jones DM, Benjamin EJ, Berry JD, Borden WB, et al. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. *Circulation*. 2012;125(1):e2-e220. Epub 2011/12/20.
4. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, et al. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *The New England journal of medicine*. 1994;331(8):489-95. Epub 1994/08/25.
5. Van Belle E, Ketelers R, Bauters C, Perie M, Abolmaali K, Richard F, et al. Patency of percutaneous transluminal coronary angioplasty sites at 6-month angiographic follow-up: A key determinant of survival in diabetics after coronary balloon angioplasty. *Circulation*. 2001;103(9):1218-24.
6. Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation*. 2005;111(17):2257-73. Epub 2005/05/04.
7. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2001;103(2):192-5. Epub 2001/02/24.
8. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *The New England journal of medicine*. 2002;346(23):1773-80. Epub 2002/06/07.

9. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *The New England journal of medicine*. 2003;349(14):1315-23. Epub 2003/10/03.
10. Camenzind E, Steg PG, Wijns W. Stent thrombosis late after implantation of first-generation drug-eluting stents: a cause for concern. *Circulation*. 2007;115(11):1440-55; discussion 55. Epub 2007/03/09.
11. Daemen J, Wenaweser P, Tsuchida K, Abrecht L, Vaina S, Morger C, et al. Early and late coronary stent thrombosis of sirolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents in routine clinical practice: data from a large two-institutional cohort study. *Lancet*. 2007;369(9562):667-78. Epub 2007/02/27.
12. Kuchulakanti PK, Chu WW, Torguson R, Ohlmann P, Rha SW, Clavijo LC, et al. Correlates and long-term outcomes of angiographically proven stent thrombosis with sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *Circulation*. 2006;113(8):1108-13. Epub 2006/02/24.
13. Pfisterer M, Brunner-La Rocca HP, Buser PT, Rickenbacher P, Hunziker P, Mueller C, et al. Late clinical events after clopidogrel discontinuation may limit the benefit of drug-eluting stents: an observational study of drug-eluting versus bare-metal stents. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;48(12):2584-91. Epub 2006/12/19.
14. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2005;293(17):2126-30. Epub 2005/05/05.
15. Nakazawa G, Ladich E, Finn AV, Virmani R. Pathophysiology of vascular healing and stent mediated arterial injury. *EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology*. 2008;4 Suppl C:C7-10. Epub 2009/02/11.
16. Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, et al. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage

- as a marker of endothelialization. *Circulation*. 2007;115(18):2435-41. Epub 2007/04/18.
17. Kotani J, Awata M, Nanto S, Uematsu M, Oshima F, Minamiguchi H, et al. Incomplete neointimal coverage of sirolimus-eluting stents: angioscopic findings. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006;47(10):2108-11. Epub 2006/05/16.
 18. Matsumoto D, Shite J, Shinke T, Otake H, Tanino Y, Ogasawara D, et al. Neointimal coverage of sirolimus-eluting stents at 6-month follow-up: evaluated by optical coherence tomography. *European heart journal*. 2007;28(8):961-7. Epub 2006/12/01.
 19. Guagliumi G, Sirbu V, Musumeci G, Gerber R, Biondi-Zoccai G, Ikejima H, et al. Examination of the in vivo mechanisms of late drug-eluting stent thrombosis: findings from optical coherence tomography and intravascular ultrasound imaging. *JACC Cardiovascular interventions*. 2012;5(1):12-20. Epub 2012/01/11.
 20. Verma S, Anderson TJ. Fundamentals of endothelial function for the clinical cardiologist. *Circulation*. 2002;105(5):546-9. Epub 2002/02/06.
 21. Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(2):168-75. Epub 2003/02/18.
 22. Targonski PV, Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Jr., Lerman A. Coronary endothelial dysfunction is associated with an increased risk of cerebrovascular events. *Circulation*. 2003;107(22):2805-9. Epub 2003/05/29.
 23. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Munzel T. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation*. 2001;104(22):2673-8. Epub 2001/11/28.
 24. Lerman A, Zeiher AM. Endothelial function: cardiac events. *Circulation*. 2005;111(3):363-8. Epub 2005/01/26.
 25. Widlansky ME, Gokce N, Keaney JF, Jr., Vita JA. The clinical implications of endothelial dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003;42(7):1149-60. Epub 2003/10/03.

26. Caramori PR, Lima VC, Seidelin PH, Newton GE, Parker JD, Adelman AG. Long-term endothelial dysfunction after coronary artery stenting. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999;34(6):1675-9. Epub 1999/11/30.
27. Maier W, Windecker S, Kung A, Lutolf R, Eberli FR, Meier B, et al. Exercise-induced coronary artery vasodilation is not impaired by stent placement. *Circulation*. 2002;105(20):2373-7. Epub 2002/05/22.
28. Hofma SH, van der Giessen WJ, van Dalen BM, Lemos PA, McFadden EP, Sianos G, et al. Indication of long-term endothelial dysfunction after sirolimus-eluting stent implantation. *European heart journal*. 2006;27(2):166-70. Epub 2005/10/27.
29. Togni M, Windecker S, Cocchia R, Wenaweser P, Cook S, Billinger M, et al. Sirolimus-eluting stents associated with paradoxical coronary vasoconstriction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;46(2):231-6. Epub 2005/07/19.
30. Obata JE, Kitta Y, Takano H, Kodama Y, Nakamura T, Mende A, et al. Sirolimus-eluting stent implantation aggravates endothelial vasomotor dysfunction in the infarct-related coronary artery in patients with acute myocardial infarction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(14):1305-9. Epub 2007/10/02.
31. Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, Dotzer F, Schuhlen H, Neumann FJ, et al. Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial. *Circulation*. 2001;103(23):2816-21. Epub 2001/06/13.
32. Pendyala LK, Yin X, Li J, Chen JP, Chronos N, Hou D. The first-generation drug-eluting stents and coronary endothelial dysfunction. *JACC Cardiovascular interventions*. 2009;2(12):1169-77. Epub 2010/02/05.
33. Nakazawa G, Finn AV, Vorpahl M, Ladich ER, Kolodgie FD, Virmani R. Coronary responses and differential mechanisms of late stent thrombosis attributed to first-generation sirolimus- and paclitaxel-eluting stents. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;57(4):390-8. Epub 2011/01/22.

34. Abizaid A, Costa JR, Jr. New drug-eluting stents: an overview on biodegradable and polymer-free next-generation stent systems. *Circulation Cardiovascular interventions*. 2010;3(4):384-93. Epub 2010/08/19.
35. Abizaid A, Costa JR, Jr. New drug-eluting stents: an overview on biodegradable and polymer-free next-generation stent systems. *Circ Cardiovasc Interv*. 3(4):384-93. Epub 2010/08/19.
36. Costa JR, Jr., Abizaid A, Costa R, Feres F, Tanajura LF, Maldonado G, et al. 1-year results of the hydroxyapatite polymer-free sirolimus-eluting stent for the treatment of single de novo coronary lesions: the VESTASYNC I trial. *JACC Cardiovasc Interv*. 2009;2(5):422-7. Epub 2009/05/26.
37. Costa JR, Jr., Abizaid A, Costa R, Feres F, Tanajura LF, Abizaid A, et al. Preliminary results of the hydroxyapatite nonpolymer-based sirolimus-eluting stent for the treatment of single de novo coronary lesions a first-in-human analysis of a third-generation drug-eluting stent system. *JACC Cardiovascular interventions*. 2008;1(5):545-51. Epub 2009/05/26.
38. Hamilos MI, Ostojic M, Beleslin B, Sagic D, Mangovski L, Stojkovic S, et al. Differential effects of drug-eluting stents on local endothelium-dependent coronary vasomotion. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;51(22):2123-9. Epub 2008/05/31.
39. Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, Boam A, Cohen DJ, van Es GA, et al. Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation*. 2007;115(17):2344-51. Epub 2007/05/02.
40. Michalis Hamilos JS, Miodrag Ostojic, Thomas Cuisset, Giovanna Sarno, Narbeh Melikian, Argyrios Ntalianis, Olivier Muller, Emanuele Barbato, Branco Beleslin, Dragan Sagic, Bernard De Bruyne, Jozef Bartunek and William Wijns. Interference of Drug-Eluting Stents With Endothelium-Dependent Coronary Vasomotion Evidence for Device-Specific Responses. *Circ Cardiovasc Intervent*. 2008(1):193-200.
41. Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, et al. Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions. *Circulation*. 2003;108(7):788-94. Epub 2003/08/06.

42. Stone GW, Midei M, Newman W, Sanz M, Hermiller JB, Williams J, et al. Comparison of an everolimus-eluting stent and a paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease: a randomized trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2008;299(16):1903-13. Epub 2008/04/24.
43. Stone GW, Witzenbichler B, Guagliumi G, Peruga JZ, Brodie BR, Dudek D, et al. Heparin plus a glycoprotein IIb/IIIa inhibitor versus bivalirudin monotherapy and paclitaxel-eluting stents versus bare-metal stents in acute myocardial infarction (HORIZONS-AMI): final 3-year results from a multicentre, randomised controlled trial. *Lancet*. 2011;377(9784):2193-204. Epub 2011/06/15.
44. Lansky AJ, Costa RA, Mintz GS, Tsuchiya Y, Midei M, Cox DA, et al. Non-polymer-based paclitaxel-coated coronary stents for the treatment of patients with de novo coronary lesions: angiographic follow-up of the DELIVER clinical trial. *Circulation*. 2004;109(16):1948-54. Epub 2004/04/14.
45. Mehilli J, Kastrati A, Wessely R, Dibra A, Hausleiter J, Jaschke B, et al. Randomized trial of a nonpolymer-based rapamycin-eluting stent versus a polymer-based paclitaxel-eluting stent for the reduction of late lumen loss. *Circulation*. 2006;113(2):273-9. Epub 2006/01/05.
46. Byrne RA, Mehilli J, Iijima R, Schulz S, Pache J, Seyfarth M, et al. A polymer-free dual drug-eluting stent in patients with coronary artery disease: a randomized trial vs. polymer-based drug-eluting stents. *European heart journal*. 2009;30(8):923-31. Epub 2009/02/26.
47. Serruys PW, Degertekin M, Tanabe K, Abizaid A, Sousa JE, Colombo A, et al. Intravascular ultrasound findings in the multicenter, randomized, double-blind RAVEL (RAndomized study with the sirolimus-eluting VELOCITY balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery Lesions) trial. *Circulation*. 2002;106(7):798-803. Epub 2002/08/15.
48. Weissman NJ, Koglin J, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, et al. Polymer-based paclitaxel-eluting stents reduce in-stent neointimal tissue proliferation: a serial volumetric intravascular ultrasound analysis from the

- TAXUS-IV trial. *Journal of the American College of Cardiology*. 2005;45(8):1201-5. Epub 2005/04/20.
49. Takano M, Yamamoto M, Murakami D, Inami S, Okamatsu K, Seimiya K, et al. Lack of association between large angiographic late loss and low risk of in-stent thrombus: angioscopic comparison between paclitaxel- and sirolimus-eluting stents. *Circulation Cardiovascular interventions*. 2008;1(1):20-7. Epub 2008/08/01.
 50. Kim JS, Wallace-Bradley D, Alviar CL, Conditt G, Milewski K, Afari ME, et al. Correlation of angiographic late loss with neointimal proliferation in stents evaluated by OCT and histology in porcine coronary arteries. *JACC Cardiovascular imaging*. 2011;4(9):1002-10. Epub 2011/09/17.
 51. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *The New England journal of medicine*. 1986;315(17):1046-51. Epub 1986/10/23.
 52. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG, Fish RD, Zebede J, Mudge GH, et al. Atherosclerosis influences the vasomotor response of epicardial coronary arteries to exercise. *The Journal of clinical investigation*. 1989;83(6):1946- Epub 1989/06/01.
 53. Hollenberg SM, Tamburro P, Klein LW, Burns D, Easington C, Costanzo MR, et al. Discordant epicardial and microvascular endothelial responses in heart transplant recipients early after transplantation. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation*. 1998;17(5):487-94. Epub 1998/06/17.
 54. Grossman DSBW. Stress Testing During Cardiac Catheterization: Exercise and Pacing Tachycardia. In: Wilkins LWa, editor. *Cardiac Catheterization, Angiography and Intervention*. Philadelphia2000. p. 325-51.
 55. Nabel EG, Selwyn AP, Ganz P. Paradoxical narrowing of atherosclerotic coronary arteries induced by increases in heart rate. *Circulation*. 1990;81(3):850-9. Epub 1990/03/01.
 56. Gossinger HD, Speiser W, Siostrzonek P, Jung M, Kyrle PA, Heisteringer M, et al. Pacing-induced myocardial ischemia does not affect the endothelial

release of coagulant and fibrinolytic factors into the coronary circulation.

Clinical cardiology. 1991;14(3):250-6. Epub 1991/03/01.

57. Perez de Prado A, Cuellas C, Diego A, Gonzalo-Orden JM, Perez-Martinez C, Regueiro M, et al. Vasomotor response to different endothelium-dependent vasodilators in an animal model. The Journal of invasive cardiology. 2012;24(7):320-3. Epub 2012/07/12.
58. Onuma Y, van Beusekom HM, Sorop O, van der Giessen WJ. The paradigm of endothelium and stent thrombosis in DES. EuroIntervention : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology. 2008;4 Suppl C:C17-21. Epub 2009/02/11.
59. van Beusekom HM, Whelan DM, Hofma SH, Krabbendam SC, van Hinsbergh VW, Verdouw PD, et al. Long-term endothelial dysfunction is more pronounced after stenting than after balloon angioplasty in porcine coronary arteries. Journal of the American College of Cardiology. 1998;32(4):1109-17. Epub 1998/10/13.
60. Kern MJ. Persistent endothelial dysfunction after drug-eluting stents: another continuing cost of reducing restenosis. JACC Cardiovascular interventions. 2008;1(1):72-3. Epub 2008/02/01.
61. Beltrame JF, Sasayama S, Maseri A. Racial heterogeneity in coronary artery vasomotor reactivity: differences between Japanese and Caucasian patients. Journal of the American College of Cardiology. 1999;33(6):1442-52. Epub 1999/05/20.
62. Jabs A, Gobel S, Wenzel P, Kleschyov AL, Hortmann M, Oelze M, et al. Sirolimus-induced vascular dysfunction. Increased mitochondrial and nicotinamide adenosine dinucleotide phosphate oxidase-dependent superoxide production and decreased vascular nitric oxide formation. Journal of the American College of Cardiology. 2008;51(22):2130-8. Epub 2008/05/31.
63. Bruns CJ, Koehl GE, Guba M, Yezhelyev M, Steinbauer M, Seeliger H, et al. Rapamycin-induced endothelial cell death and tumor vessel thrombosis potentiate cytotoxic therapy against pancreatic cancer. Clinical cancer

- research : an official journal of the American Association for Cancer Research. 2004;10(6):2109-19. Epub 2004/03/26.
64. Joner M, Nakazawa G, Finn AV, Quee SC, Coleman L, Acampado E, et al. Endothelial cell recovery between comparator polymer-based drug-eluting stents. *Journal of the American College of Cardiology*. 2008;52(5):333-42. Epub 2008/07/26.
 65. Hamilos M, Sarma J, Ostojic M, Cuisset T, Sarno G, Melikian N, et al. Interference of drug-eluting stents with endothelium-dependent coronary vasomotion: evidence for device-specific responses. *Circulation Cardiovascular interventions*. 2008;1(3):193-200. Epub 2009/12/25.
 66. Kim JW, Suh SY, Choi CU, Na JO, Kim EJ, Rha SW, et al. Six-month comparison of coronary endothelial dysfunction associated with sirolimus-eluting stent versus Paclitaxel-eluting stent. *JACC Cardiovascular interventions*. 2008;1(1):65-71. Epub 2008/02/01.
 67. Tzafriri AR, Vukmirovic N, Kolachalama VB, Astafieva I, Edelman ER. Lesion complexity determines arterial drug distribution after local drug delivery. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2010;142(3):332-8. Epub 2009/11/21.
 68. van der Giessen WJ, Sorop O, Serruys PW, Peters-Krabbendam I, van Beusekom HM. Lowering the dose of sirolimus, released from a nonpolymeric hydroxyapatite coated coronary stent, reduces signs of delayed healing. *JACC Cardiovascular interventions*. 2009;2(4):284-90. Epub 2009/05/26.
 69. Tada N, Virmani R, Grant G, Bartlett L, Black A, Clavijo C, et al. Polymer-free biolimus a9-coated stent demonstrates more sustained intimal inhibition, improved healing, and reduced inflammation compared with a polymer-coated sirolimus-eluting cypher stent in a porcine model. *Circulation Cardiovascular interventions*. 2010;3(2):174-83. Epub 2010/04/22.
 70. Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, et al. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious? *Circulation*. 2004;109(6):701-5. Epub 2004/01/28.

71. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, Nishimura RA, Holmes DR, Jr., Lerman A. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000;101(9):948-54. Epub 2000/03/07.
72. Lavi S, Bae JH, Rihal CS, Prasad A, Barsness GW, Lennon RJ, et al. Segmental coronary endothelial dysfunction in patients with minimal atherosclerosis is associated with necrotic core plaques. *Heart*. 2009;95(18):1525-30. Epub 2009/06/06.
73. Fujii K, Kawasaki D, Oka K, Akahori H, Fukunaga M, Sawada H, et al. Endothelium-dependent coronary vasomotor response and neointimal coverage of zotarolimus-eluting stents 3 months after implantation. *Heart*. 2011;97(12):977-82. Epub 2011/01/05.
74. Windecker S, Serruys PW, Wandel S, Buszman P, Trznadel S, Linke A, et al. Biolimus-eluting stent with biodegradable polymer versus sirolimus-eluting stent with durable polymer for coronary revascularisation (LEADERS): a randomised non-inferiority trial. *Lancet*. 2008;372(9644):1163-73. Epub 2008/09/04.
75. Stefanini GG, Byrne RA, Serruys PW, de Waha A, Meier B, Massberg S, et al. Biodegradable polymer drug-eluting stents reduce the risk of stent thrombosis at 4 years in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a pooled analysis of individual patient data from the ISAR-TEST 3, ISAR-TEST 4, and LEADERS randomized trials. *European heart journal*. 2012;33(10):1214-22. Epub 2012/03/27.
76. Kitahara H, Kobayashi Y, Iwata Y, Fujimoto Y, Komuro I. Effect of pioglitazone on endothelial dysfunction after sirolimus-eluting stent implantation. *The American journal of cardiology*. 2011;108(2):214-9. Epub 2011/05/14.
77. Lehtinen T, Kiviniemi TO, Ylitalo A, Mikkelsen J, Airaksinen JK, Karjalainen PP. Early vascular healing after endothelial progenitor cell capturing stent implantation. *The Journal of invasive cardiology*. 2012;24(12):631-5. Epub 2012/12/12.
78. Karjalainen PP, Ylitalo A, Niemela M, Kervinen K, Makikallio T, Pietili M, et al. Titanium-nitride-oxide coated stents versus paclitaxel-eluting stents in acute

myocardial infarction: a 12-months follow-up report from the TITAX AMI trial. *EuroIntervention* : journal of EuroPCR in collaboration with the Working Group on Interventional Cardiology of the European Society of Cardiology. 2008;4(2):234-41. Epub 2008/12/30.

79. van Beusekom HM, Ertas G, Sorop O, Serruys PW, van der Giessen WJ. The Genous endothelial progenitor cell capture stent accelerates stent re-endothelialization but does not affect intimal hyperplasia in porcine coronary arteries. *Catheterization and cardiovascular interventions* : official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions. 2012;79(2):231-42. Epub 2011/08/13.
80. Serruys PW, Onuma Y, Dudek D, Smits PC, Koolen J, Chevalier B, et al. Evaluation of the second generation of a bioresorbable everolimus-eluting vascular scaffold for the treatment of de novo coronary artery stenosis: 12-month clinical and imaging outcomes. *Journal of the American College of Cardiology*. 2011;58(15):1578-88. Epub 2011/10/01.
81. Brugaletta S, Heo JH, Garcia-Garcia HM, Farooq V, van Geuns RJ, de Bruyne B, et al. Endothelial-dependent vasomotion in a coronary segment treated by ABSORB everolimus-eluting bioresorbable vascular scaffold system is related to plaque composition at the time of bioresorption of the polymer: indirect finding of vascular reparative therapy? *European heart journal*. 2012;33(11):1325-33. Epub 2012/04/18.
82. Togni M, Raber L, Cocchia R, Wenaweser P, Cook S, Windecker S, et al. Local vascular dysfunction after coronary paclitaxel-eluting stent implantation. *International journal of cardiology*. 2007;120(2):212-20. Epub 2007/01/20.
83. Shin DI, Kim PJ, Seung KB, Kim DB, Kim MJ, Chang K, et al. Drug-eluting stent implantation could be associated with long-term coronary endothelial dysfunction. *International heart journal*. 2007;48(5):553-67. Epub 2007/11/14.
84. Shin DI, Seung KB, Kim PJ, Chang K, Choi JK, Jeon DS, et al. Long-term coronary endothelial function after zotarolimus-eluting stent implantation. A 9 month comparison between zotarolimus-eluting and sirolimus-eluting stents. *International heart journal*. 2008;49(6):639-52. Epub 2008/12/17.

85. Obata JE, Nakamura T, Kitta Y, Kodama Y, Sano K, Kawabata K, et al.
Treatment of acute myocardial infarction with sirolimus-eluting stents results
in chronic endothelial dysfunction in the infarct-related coronary artery.
Circulation Cardiovascular interventions. 2009;2(5):384-91. Epub
2009/12/25.