

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA

**HIPERPLASIA INIMAL APÓS IMPLANTE DE STENT EM AORTA DE  
SUÍNOS SUBMETIDOS À HIPER-HOMOCISTEINEMIA INDUZIDA.**

LUÍS HENRIQUE GIL FRANÇA

TESE DE DOUTORADO

PORTO ALEGRE  
2007

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE MEDICINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA: CIRURGIA**

**HIPERPLASIA INTIMAL APÓS IMPLANTE DE STENT EM AORTA DE  
SUÍNOS SUBMETIDOS À HIPER-HOMOCISTEINEMIA INDUZIDA.**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Medicina – Cirurgia. Área de Concentração Cirurgia Cardiovascular. Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Autor: Luís Henrique Gil França

**Orientador: Prof. Dr. Adamastor H. Pereira**

**PORTO ALEGRE**

**2007**

França, Luís Henrique Gil

Hiperplasia intimal após implante de stent em aorta de suínos submetidos à hiper-homocisteinemia induzida. / Luís Henrique Gil França. – Porto Alegre, 2007.

p. 157.

Tese (Doutorado) - Programa de Pós-Graduação em Medicina: Cirurgia, Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

1. Artéria. 2. Prótese vascular. 3. Homocisteína. 4. Modelos animais.  
I. Título.

Aos queridos, Antônio Francisco Gil Jr, Gencerica Dias de Carvalho Gil, Deocy Conceição França e Teresa Gueber França; as maiores fontes de inspiração .

Aos meus queridos pais, DEOCY e MARIA IGNEZ; sem eles, nada por mim seria realizado.

A minha querida mulher GISELE pelo amor e apoio durante a pós-graduação.

Aos queridos,

FRANCISCA  
BENTO  
RITA  
GENI  
PHILLIP  
ALEXANDRE

## AGRADECIMENTOS

Ao chefe do Serviço de Cirurgia Vascular do Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, e orientador deste trabalho, Prof. Dr. Adamastor Humberto Pereira, pelo apoio, amizade e dedicação na realização deste trabalho.

A Sra. Márcia Orlandowski pela elaboração da análise estatística.

Ao CNPq pelo incentivo à pesquisa científica.

Aos colegas e amigos: Prof. Dr. Francisco Costa, Prof. Dr. Gilberto Gonçalves Souza, Dr. Marco Aurélio Grudtner, Dr. Sílvio César Perini, Dr. Celso Cursio Avelini e Dr. Rodrigo Argenta pela colaboração ao longo da realização deste estudo.

Aos colegas e amigos do CP/HCPA: Profa. Dra. Roseli de Oliveira Mollerke e Dr. Marcos Eugênio Soares, pela inestimável dedicação na realização deste trabalho.

A minha família, em especial aos meus pais Deocy França e Maria Ignez Gil França, pelo estímulo e apoio durante a realização da pós-graduação em Cirurgia.

A Sra. Gencericia Dias de Carvalho Gil, minha avó, e ao Prof. Deocy Conceição França, meu avô, que muito cedo nos deixaram.

A Dra Francisca Berenice Dias Gil, Sra. Rita Dias de Carvalho, Sra. Geni Dias de Souza e Sr. Bento Dias Gil e meus irmãos Phillip e Alexandre pelo apoio constante.

A minha mulher Gisele Fernandes Dias pelo carinho e compreensão durante a realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	vii
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	viii
<b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....	ix
<b>RESUMO</b> .....	x
<b>ABSTRACT</b> .....	xi
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	1
1.1 OBJETIVO.....	4
<b>2 REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	5
2.1 HOMOCISTEÍNA.....	5
2.1.1 metabolismo da homocisteína.....	7
2.1.2 homocisteína e doença vascular.....	13
2.2 CONSTITUIÇÃO DA PAREDE ARTERIAL.....	21
2.3 IMPORTÂNCIA DO ENDOTÉLIO NA PROTEÇÃO DA PAREDE VASCULAR....	22
2.4 TERAPÊUTICA ENDOVASCULAR.....	23
2.4.1 histórico.....	23
2.4.2 fisiopatologia da reestenose.....	32
2.4.3 remodelamento geométrico.....	35
2.4.4 mecanismos de reestenose nas diferentes técnicas de angioplastia.....	39
2.5 STENTS.....	36
2.6 MODELO EXPERIMENTAL.....	67
2.6.1 anatomia da aorta e da parede abdominal do suíno.....	70
REFERÊNCIAS.....	72
<b>3 MATERIAL E MÉTODO</b> .....	114
3.4 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	115
3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO.....	116

3.2 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	116
3.3 VARIÁVEIS EM ESTUDO.....	116
3.5 TÉCNICA ANESTÉSICA.....	117
3.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO.....	117
3.7 PREPARO DO TECIDO PARA ANÁLISE MORFOLÓGICA.....	118
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	119
<b>4 RESULTADOS.....</b>	<b>120</b>
<b>5 DISCUSSÃO.....</b>	<b>129</b>
<b>6 CONCLUSÃO.....</b>	<b>135</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>136</b>
<b>ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS.....</b>	<b>141</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>157</b>

## LISTA DE TABELAS

TABELA 1	- ANÁLISE ESTATÍSTICA RELATIVA À HIPERPLASIA INTIMAL.....	123
TABELA 2	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE COLESTEROL TOTAL (mg/dL).....	124
TABELA 3	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE COLESTEROL HDL (mg/dL).....	125
TABELA 4	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS NÍVEIS PLASMÁTICOS DE TRIGLICERÍDEOS (mg/dL).....	126
TABELA 5	- ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS NÍVEIS DE HOMOCISTEÍNA PLASMÁTICA (µmol/L).....	128



## LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1	- ANGIOGRAFIA APÓS IMPLANTE DE STENT EM AORTA ABDOMINAL DE SUÍNO DEMONSTRANDO PERVIDADE DOS RAMOS DA AORTA ABDOMINAL.....	120
FIGURA 2	- ANGIOGRAFIA APÓS IMPLANTE DE STENT EM AORTA ABDOMINAL DE SUÍNO DEMONSTRANDO PERVIDADE DO STENT.....	120
FIGURA 3	- MACROSCOPIA DA AORTA COM STENT DO GRUPO CONTROLE.....	121
FIGURA 4	- MACROSCOPIA DA AORTA COM STENT DO GRUPO METIONINA.....	121
FIGURA 5	- AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA PAREDE DE AORTA DO GRUPO CONTROLE.....	122
FIGURA 6	- AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DA PAREDE DE AORTA DO GRUPOMETIONINA.....	123

## LISTA DE ABREVIATURAS

ATP	-	Angioplastia transluminal percutânea
CP/HCPA	-	Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre
DM	-	diabetes mellitus
ED	-	eco-doppler
HAS	-	hipertensão arterial sistêmica
HDL	-	lipoproteína de alta densidade
ITB	-	índice tornozelo/braquial
LDL	-	lipoproteína de baixa densidade
LLI	-	lâmina elástica interna
LLE	-	lâmina elástica externa
UFRGS	-	Universidade Federal do Rio Grande do Sul

## RESUMO

A hiperplasia intimal é uma complicação comum após o implante de stent em artérias periféricas e a influência da homocisteína neste processo ainda é desconhecida. O objetivo deste estudo é comparar o espessamento intimal em aorta de suínos submetidos à hiper-homocisteinemia induzida com suínos normais, após implante de stents auto-expansíveis de nitinol. Foram utilizados 18 suínos da raça Macau, com peso médio de 30 kg. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos: o primeiro, grupo C (controle), foi alimentado com dieta normal e o outro, grupo M (metionina), recebeu dieta rica em metionina para induzir hiper-homocisteinemia durante 30 dias. Os stents utilizados para o experimento foram os auto-expansíveis, de nitinol, com 25 milímetros de comprimento e diâmetro final de oito milímetros. Foram realizadas dosagens de colesterol, triglicerídeos, colesterol HDL e homocisteína plasmática em ambos os grupos. A adequação das medidas do stent em relação às dimensões da artéria aorta dos suínos e a sua perviedade, após o implante, foram confirmadas mediante realização de arteriografias seletivas. Trinta dias após o implante do stent, os animais foram submetidos à eutanásia e as peças enviadas para exame anatomopatológico. O exame histológico mostrou intensa hiperplasia intimal no grupo controle e placas formadas por macrófagos espumosos com pouca hiperplasia intimal no grupo metionina. A análise morfométrica digital revelou maior hiperplasia intimal no grupo C em relação ao grupo M. Não ocorreram mudanças significativas nas dosagens de colesterol, triglicerídeos e colesterol HDL, em ambos os grupos. Não ocorreram variações significativas nos níveis de homocisteína plasmática dos suínos do grupo controle e, nos animais do grupo metionina, os níveis plasmáticos de homocisteína aumentaram de 17,47 para 58,90  $\mu\text{mol/l}$  após 30 dias de administração de dieta rica em metionina. Concluindo, em aorta abdominal de suínos, alimentados com dieta rica em metionina por 30 dias, ocorreu uma hiperplasia intimal menor após o implante de stent auto-expansível de nitinol em comparação ao grupo controle.

Palavras-chave: artéria; prótese vascular; homocisteína; modelos animais.

## ABSTRACT

Intimal hyperplasia is a common complication after stent placement in peripheral arteries and the influence of homocysteine in this process is still unknown. The purpose of this study is to compare the intimal thickening in the aorta of normal and induced hyperhomocysteinemic pigs following placement of self-expanding nitinol stents. The animals used were 18 pigs from the Macau specimen. They were over eight weeks old and average weight of 30 kg. Nitinol stents were self-expandable, 25 mm length and expanded diameters of 8 mm. The pigs were divided in two groups, the first (group C) was fed with a normal diet and the second group was fed with methionine rich diet to induce hyperhomocysteinemia (group M) during 30 days. Blood samples were collected for analyses of total cholesterol, triglycerides, and HDL and homocysteine concentrations. Assessment was done by angiography. After 30 days of the procedure, the animals were sacrificed and the abdominal aorta segment was removed for histological and digital morphometry analysis. Microscopic examinations of the aortas of the control group had a significant thicker intima compared with methionin group. In the comparison among groups, intimal thickening of the vessel wall at digital morphometric analysis was higher in group C than group M. There was no significant change in total cholesterol, triglycerides, and HDL concentrations in either group. There was no change in plasma homocysteine levels in group C; and in group M plasma homocysteine levels ranged from 17,47 to 59,80  $\mu\text{mol/l}$  after 30 days with a methionine-rich diet. In conclusion, insertion of self-expandable nitinol stent in pig's abdominal aorta after 30 days with a methionine-rich diet results in less intimal hyperplasia as compared to normal pigs.

Keywords: artery; blood vessel prosthesis; homocysteine; models, animal.

## 1. INTRODUÇÃO

As doenças do aparelho circulatório apresentam altas taxas de morbidade e mortalidade e, dentre as várias etiologias conhecidas, a mais comum é a aterosclerose (LUSIS, 2000).

O termo arteriosclerose foi definido por Lobstein, em 1829, tendo um caráter genérico e referindo-se a toda doença arterial associada com espessamento de sua parede. Significa endurecimento ou esclerose e tem sido aplicado a um conjunto de processos que possui, em comum, espessamento da parede arterial com perda da elasticidade. O termo aterosclerose foi proposto por Marchand, em 1904, para caracterizar as lesões com degeneração gordurosa e proliferação de tecido conjuntivo (ROSS, 1976; LUSIS, 2000).

Atualmente, a aterosclerose é definida como um processo crônico, progressivo e sistêmico conseqüente a uma resposta inflamatória e fibroproliferativa causada por agressão à superfície arterial. Nos últimos anos houve um considerável progresso nas pesquisas experimentais e clínicas, que evidenciaram a importância do processo inflamatório na sua gênese (ROSS, 1997; ROSS, 1999; LIBBY, 2002).

A doença arterial periférica que atinge a aorta, seus ramos e artérias dos membros, apresenta uma prevalência alta, afetando aproximadamente 29% de norte-americanos, e acredita-se que sua prevalência na população em geral seja subestimada pelo fato de o processo aterosclerótico permanecer subclínico e assintomático por longo tempo (CRIQUI, 1995).

Nos últimos 50 anos, foram reconhecidos diversos fatores de risco para o desenvolvimento da aterosclerose. Entre estes o tabagismo, as dislipidemias, a

hipertensão arterial, o diabetes, o sedentarismo, a obesidade, a história familiar e o sexo masculino. Apesar disso, pelo menos a metade dos pacientes que desenvolvem doença clínica não apresenta nenhum desses fatores. A identificação de outros marcadores, que aumentariam o risco de doença aterosclerótica pode expandir o entendimento sobre os seus mecanismos fisiopatológicos e possibilitar o desenvolvimento de novas medidas preventivas ou terapêuticas. Os novos fatores de risco identificados são: a lipoproteína (a), o fibrinogênio, os estados de hipercoagulabilidade sangüínea, conhecidos como trombofilias, e a hiper-homocisteinemia (FOWKES, 1988; LASTÓRIA, 2002; CASTELLI JR., 2004).

Estudos epidemiológicos revelam que pessoas com homocisteína elevada têm risco aumentado de ser acometidas de doença cardiovascular. Estudos clínicos e experimentais sugerem que concentrações anormalmente elevadas de homocisteína podem ser responsáveis por tendências aterogênicas e trombóticas em pacientes com hiper-homocisteinemia, embora o mecanismo exato de sua ação ainda não tenha sido completamente elucidado. A importante questão de como a homocisteína, um aminoácido que contém enxofre, afeta os processos bioquímicos das células e tecidos das paredes arteriais para produzir placas ateroscleróticas é ainda hoje um campo ativo de investigação (VON ECKARDSTEIN, 1994; VENÂNCIO, 2004).

Classicamente, as estenoses e oclusões no território aorto-ilíaco são tratadas com intervenções cirúrgicas intra-abdominais, como por exemplo, o enxerto aorto-bifemoral e as derivações extra-anatômicas. Entretanto, com a evolução da terapia endovascular, o uso da angioplastia e de endopróteses para tratar as lesões oclusivas ateroscleróticas aorto-ilíacas tem desempenhado um papel cada vez maior. Porém, esta modalidade de tratamento não é isenta de complicações. A estenose recidivante pós-angioplastia é uma complicação freqüente. Pode ser causada pelo recuo da parede arterial ou pela progressão da doença aterosclerótica. Em ambas as situações,

a repetição da angioplastia com colocação ou não de endoprótese costuma ser bem sucedida. Esta estenose também pode ter como causa a hiperplasia miointimal, material que não sofre fratura com a dilatação (SITRÂNGULO JR., 1999; KAUFFMAN, 2004). Atualmente, o objetivo principal das pesquisas é a redução da hiperplasia intimal após a colocação de stent, e existem vários relatos demonstrando os resultados do uso de stents recobertos, stents eluídos com drogas e stents com substâncias radioativas capazes de inibir a hiperplasia intimal (MOREIRA, 2006; LOBATO, 2006).

O desenvolvimento de métodos destinados a inibir a proliferação miointimal constitui uma área de intensa pesquisa. No entanto, existem limitações evidentes na extrapolação de estudos em animais para humanos, os quais devem ser considerados. Apesar das semelhanças anatomo-fisiológicas, há diferença entre as espécies. Em suínos, por exemplo, a aorta pode responder de maneira diferente da aorta humana. Da mesma forma, as alterações induzidas pela presença do stent podem ser diferentes em uma aorta aterosclerótica (NARAYANASWAMY, 2000). Idealmente, o estudo da reestenose deveria ser realizado em artérias com doença aterosclerótica avançada. Uma tentativa de se obter um estado clínico próximo do ideal, mas sem indução de aterosclerose é provocar a lesão, por meio de angioplastia ou implante de stents. A maioria dos estudos experimentais em cirurgia endovascular utiliza o implante de stents com o objetivo de comparar a resposta cicatricial em artérias normais (ROGERS, 1999). Além desta comparação, o presente trabalho propõe o desenvolvimento de um modelo experimental de lesão aterogênica em suínos, mediante a administração de metionina (um aminoácido do produto da homocisteína) adicionada à dieta por via oral, para indução da lesão e, após isso, realizar a avaliação da resposta cicatricial do implante de stent em aorta destes animais.

## 1.1 OBJETIVO

Estudos experimentais utilizam o implante de stents em artérias de animais com o objetivo de analisar a resposta cicatricial da parede do vaso e desenvolver métodos destinados à diminuição da hiperplasia intimal. No presente estudo será avaliada a hipótese de o stent de nitinol induzir um aumento de espessura, de graus variáveis, na camada íntima (hiperplasia intimal) de artérias com e sem lesão aterosclerótica provocada pela hiper-homocisteinemia.

O objetivo desta pesquisa é comparar, mediante a análise morfométrica digital, a hiperplasia intimal presente na parede de aorta, após o implante de stents de nitinol em suínos submetidos à hiper-homocisteinemia induzida pela dieta com adição de metionina, com suínos alimentados com dieta normal.



## 2 REVISÃO DA LITERATURA

### 2.1 HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é um aminoácido que contém enxofre em grupo de sulfidril livre. Foi descoberto em 1932 por DU VIGNEAUD como produto intermediário da demetilação da metionina e descrita pela primeira vez em 1939. O interesse pela homocisteína aumentou quando foi descoberto o erro inato do metabolismo, a homocistinúria. Significa a excreção de grande quantidade de homocisteína, ou dissulfeto de homocisteína na urina, reflexo dos altos níveis de homocisteína no sangue. Esta doença foi descrita pela primeira vez em 1962 por CARSON E NEILL, que a identificaram em dois irmãos, com quatro e seis anos de idade, entre 2.081 indivíduos com retardo mental (DU VIGNEAUD, 1950; UELAND, 1992). No mesmo ano GERRITSEN e, dois anos após GERRITSEN E WAISMAN identificaram homocisteína na urina e documentaram a ausência de cistationina cerebral em uma criança com retardo mental e tromboembolismo (GERRITSEN, 1962 e 1964). MUDD, em 1964, demonstrou a ausência da atividade da cistationina- $\beta$ -sintetase no fígado de uma criança com homocistinúria. Em seguida, GIBSON em 1964 e SCHIMKE, em 1965, relataram pacientes com deficiência da cistationina- $\beta$ -sintetase suscetíveis à doença vascular severa.

Em 1969, MC CULLY descreveu lesões vasculares similares às observadas na deficiência da cistationina- $\beta$ -sintetase em uma criança, que foi a óbito de homocistinúria com sete semanas e meia de vida, causado por um defeito no metabolismo da cobalamina.

A forma mais comum é a deficiência da cistationina- $\beta$ -sintetase e raros casos são devidos a defeitos no metabolismo da cobalamina e deficiência da 5, 10 – metilenotetrahidrofolato – redutase (MUDD, 1972; FOWLER, 1997). O desenvolvimento de doença vascular precoce em diferentes formas de homocistinúria foi confirmado pelo relato de vários outros casos (UELAND, 1992).

Em 1969, MC CULLY descreveu lesões ateroscleróticas prematuras em pacientes portadores de homocistinúria, comprometendo artérias grandes, médias e pequenas, podendo afetar qualquer leito vascular. Relatou espessamento acentuado da íntima, bem como proliferação e desgaste da camada média de fibras musculares, com aumento do colágeno intersticial. Havia alterações na lâmina elástica interna, da camada muscular da parede arterial; as lesões estavam associadas com a proliferação do tecido conectivo perivascular, apresentando aumento no número de fibroblastos, feixes de colágeno e fibras elásticas. MC CULLY e WILSON, em 1975, formularam a teoria aterosclerótica da homocistinúria, baseada em evidências clínica e experimental. Evidenciaram as lesões vasculares desenvolvidas na homocistinúria, causada por diferentes defeitos metabólicos, sugerindo que altas concentrações de homocisteína, por si só, são responsáveis pelo dano vascular. A teoria também admite que moderada elevação da homocisteína no sangue, causada por anormalidade no metabolismo daquele aminoácido, poderia estar associada a risco aumentado para doença vascular (MC CULLY, 1983). Desde o trabalho pioneiro de WILCKEN em 1976, que relaciona doença arterial coronariana com níveis mais elevados de homocisteína, tem sido mostrado que a aterosclerose prematura das artérias coronárias, cerebrais e periféricas, independentemente de outros fatores de risco, está associada à homocisteína elevada no plasma.

### 2.1.1 METABOLISMO DA HOMOCISTEÍNA

A homocisteína é um produto intermediário da demetilação da metionina. Metionina é um aminoácido essencial fornecido pelo catabolismo diário de proteínas. Sua necessidade diária é de 10-40 mg/kg (UELAND, 1992). A metionina não incorporada à proteína endógena é demetilada e catalisada pela enzima metionina S – adenosiltransferase, resultando em S – adenosil – metionina. Somente uma pequena fração da S – adenosil - metionina é usada na síntese das poliaminas, e sua maior função é doar radicais metila, em várias reações de transmetilação. O produto demetilado da S – adenosil - metionina é a S – adenosil - homocisteína, hidrolisado pela enzima S – adenosil – homocisteína – hidrolase, formando homocisteína e adenosina (FINKELSTEIN, 1986; FINKELSTEIN, 1990; FOWLER, 1997).

A homocisteína pode ser catabolisada para cisteína por meio de reações dependentes da vitamina B6, complementando assim a via de transulfuração ou remetilação da metionina. Na primeira destas reações, a homocisteína é condensada com a serina, pela enzima cistationina- $\beta$ -sintetase, formando a cistationina. Esta reação sob condições fisiológicas é irreversível e explica a impossibilidade da cistationina servir como precursora da metionina. A cistationina é catalisada pela enzima  $\gamma$  – cistationinase, dependente da vitamina B6 em cisteína, que é finalmente convertida para sulfato e excretada na urina (FINKELSTEIN, 1990).

Na via de remetilação, a homocisteína é reciclada para metionina através de duas reações diferentes. A primeira necessita da presença da 5 – metiltetraidrofolato – homocisteínametil – transferase (metionina sintetase). A metilcobalamina (vitamina B12) e o metiltetraidrofolato são utilizados como co-fatores e co-substratos para esta enzima. A via de remetilação é facilitada durante a deficiência relativa da metionina;

esta reciclagem e a conservação da homocisteína asseguram a manutenção adequada de metionina (FINKELSTEIN, 1990; FOWLER, 1997).

A segunda via consiste na remetilação da homocisteína catalisada pela enzima betaína-homocisteína-metiltransferase. A homocisteína é um indicador importante da situação do metabolismo da metionina, e sua seqüência metabólica pode ser influenciada por alterações de folato, vitamina B6, cobalamina ou pelas atividades das diversas enzimas que participam das vias de transulfurações ou remetilação. Normalmente, a concentração de homocisteína é mantida dentro de limites estreitos, e qualquer aumento na produção origina-se principalmente a partir das células hepáticas (CHRISTENSEN, 1991; REFSUM, 1991; UELAND, 1992). A concentração sangüínea da homocisteína é, dessa forma, reflexo expressivo da sua concentração intracelular e da integridade das diversas vias responsáveis pelo seu metabolismo. Aproximadamente 80% da homocisteína sangüínea une-se às proteínas por meio de ligação dissulfeto (MANSOOR, 1992). A homocisteína livre, cerca de 20%, combina-se por oxidação com a própria homocisteína para formar o dímero homocisteína (homocistina), ou com a cisteína para constituir a forma mista cisteína-dissulfeto-homocisteína. Somente pequena quantidade circula como homocisteína livre (UELAND, 1989; MANSOOR, 1992). Esta forma de homocisteína livre liga-se às proteínas, mesmo quando as amostras de sangue são imediatamente congeladas (REFSUM, 1985); portanto a homocisteína livre pode ser variável, porém a homocisteína total permanece constante. Ainda assim, se o sangue total for armazenado à temperatura ambiente, a homocisteína total pode aumentar, devido à saída da homocisteína dos eritrócitos (MALINOW, 1994). Alguns autores têm preferido o termo “hiper-homocisteinemia” para designar elevações da homocisteína, homocistina, cisteína, dissulfeto-homocisteína e homocisteína ligada à proteína (MALINOW, 1994; COULL, 1990); porém, a maioria dos estudos publicados continua

usando o termo hiper-homocisteinemia para designar, de maneira mais simples, tais elevações (MC CULLY, 1996).

Os valores da homocisteína total plasmática em jejum na população normal estão situados na faixa de 5 a 15  $\mu\text{mol/l}$  (UELAND, 1989; JACOBSEN, 1994). Alguns indivíduos podem ter concentrações normais em jejum e comprometimento do metabolismo da homocisteína. Nestas situações, utiliza-se o teste de sobrecarga em metionina para evidenciar esta anormalidade latente (UELAND, 1992). Semelhante, em princípio, ao teste de tolerância à glicose, a sobrecarga é realizada pela administração de uma dose oral de metionina de 0,10 g/kg de peso corporal. Desta forma, aumentam-se os níveis plasmáticos de homocisteína que podem ser medidos 2, 4, 6 ou 8 horas depois. Existe alguma variabilidade em relação ao tempo em que se observam valores máximos, e os níveis da homocisteína livre podem atingir o máximo entre 4 e 6 horas. Estudos recentes da homocisteína, em situações patológicas, têm utilizado as concentrações da homocisteína total em jejum, apresentando conclusões semelhantes àsquelas de estudos prévios, empregando o teste de sobrecarga de metionina (CLARKE, 1991; UBBINK, 1991; BRATTSTROM, 1992).

Vários estudos analisaram os efeitos citotóxicos diretos da homocisteína sobre o crescimento de células endoteliais em culturas de tecido. WALL (1980) usando a substância L-homocisteína tiolactona, produziu lesão nas células endoteliais de diferentes vasos, na dependência da respectiva concentração. Esta lesão era prevenida pela catalase, sugerindo a participação importante do peróxido de hidrogênio no processo patológico. O peróxido de hidrogênio foi produzido pela oxidação da homocisteína na presença de cobre; as células endoteliais, em culturas expostas à homocisteína, só foram lesadas após a adição de cobre (STARKEBAUM, 1986).

HARKER (1974) ao infundir continuamente L-homocisteína durante cinco dias em babuínos, produziu descamação em placas do endotélio vascular, assim como a diminuição do tempo de sobrevivência das plaquetas. Deste modo, concluiu que a formação de trombo arterial em pacientes homocistinúricos resulta da lesão arterial produzida pela homocisteína. Neste estudo e em outro realizado por HARKER em 1983, foram administrados agentes antiplaquetários, que induziram alguns dos efeitos trombóticos adversos; estes achados, obtidos em babuínos, não foram observados em outras espécies animais, como suínos (REDDY, 1982; SMOLIN, 1983), coelhos (DONAHUE, 1974) e macacos (KRISHNASWAMY, 1977). Estes estudos sugerem que as respostas dependem da espécie animal envolvida no estudo. Em 1995, ROLLAND estudou suínos submetidos à dieta rica em metionina, e observou concentrações elevadas de homocisteína plasmática após quatro meses do uso dessa dieta e, também, dois casos de trombose em dezesseis animais. Além disto, foram observadas alterações patológicas na lâmina elástica das artérias desses animais. A prostaciclina é potente inibidor da agregação plaquetária. A redução na síntese desta substância poderia ser fator predisponente à trombose, porém os efeitos da homocisteína na síntese da prostaciclina são conflitantes (PANGANAMALA, 1986; WANG, 1993). O óxido nítrico, relaxador do endotélio, pode proteger contra os efeitos da homocisteína, proteção esta que pode ser perdida com a prolongada exposição do endotélio à homocisteína (STAMLER, 1993).

TSAI (1994) relatou que os efeitos promotores da homocisteína sobre células do músculo liso vascular junto com seu efeito inibidor sobre o crescimento das células endoteliais representam um mecanismo importante para elucidar a aterosclerose produzida pela homocisteína. WOO (1997) demonstrou esse fato usando ultra-som de alta resolução, o que induziu alterações no endotélio arterial precursoras de aterosclerose precoce em pacientes adultos assintomáticos, porém com homocisteína entre  $34,8 \pm 8,5 \mu\text{mol/l}$ .

Portadores de hiper-homocisteinemia com disfunção endotelial apresentaram processo de oxidação elevada no endotélio, que se reduz com administração de folato, sugerindo que a disfunção endotelial é causada por mecanismo de peroxidação (MCDOWELL, 2000).

CHAO (2000) acreditou que a lesão no endotélio estava associada à diminuição da atividade do óxido nítrico e não à mudança do estado oxidativo endotelial. A homocisteína plasmática elevada diminui a produção de prostaciclina e de óxido nítrico pelo endotélio (MCCULLY, 1996). Colocando-se células endoteliais humanas na presença de homocisteína, há diminuição da secreção do agente vasoconstritor, endotelina 1, e, seletivamente, pode prejudicar o efeito vasodilatador do endotélio pela inibição na produção da endotelina. CHEN (2000) demonstrou, em culturas de células do músculo liso da parede arterial de seres humanos e de carótidas de suínos, que a homocisteína tem efeito prejudicial na proliferação das células do músculo liso e efeito citotóxico nas células endoteliais. Ao avaliar o efeito da hiper-homocisteinemia sobre a vasoconstrição adrenérgica na resistência arterial, CIPOLLA (2000) concluiu que a elevação da homocisteína plasmática diminui a contração adrenérgica arterial.

A homocisteína afeta diversos fatores envolvidos na coagulação. O aumento na tendência de trombose intravascular tem sido associado à baixa atividade da antitrombina. GIANNINI (1975) mostrou significativa redução da atividade antitrombina em sete pacientes com homocistinúria, comparados com sete pacientes do grupo controle. PALARETI (1989) encontrou resultado semelhante, porém normalizaram a atividade da antitrombina utilizando piridoxina e ácido fólico, mesmo com níveis elevados de homocisteína, e sugere que estas substâncias desempenham papel específico e independente da homocisteína na correção desta anormalidade da coagulação.

Diversos estudos in vitro demonstraram que a homocisteína promove atividade pró-coagulante. O endotélio vascular possui múltiplas propriedades pró-coagulantes, incluindo a síntese do fator V. RODGERS (1986) tratando a cultura de células endoteliais com 0,5 a 10  $\mu\text{mol}$  de homocisteína, observou aumento na atividade do fator V e na ativação da protombina pelo fator Xa. Como a proteína C regula a interação das células endoteliais com o fator V, RODGERS (1990) observou nessa ocasião inibição de 90% na ativação da proteína C, quando as culturas de células endoteliais arteriais e venosas eram tratadas com 7,5 a 10  $\mu\text{mol/litro}$  de homocisteína, após seis a nove horas de incubação. Estes dados sugerem que este fator pode contribuir para a tendência trombótica em pacientes com hiper-homocisteinemia. LENTZ (1991) demonstrou que a homocisteína inibe o transporte da trombosmodulina através das vias secretórias das células endoteliais. A trombosmodulina é uma glicoproteína anticoagulante da superfície endotelial e serve como co-fator para a ativação da proteína C pela trombosmodulina. A homocisteína inibe também a atividade do co-fator da trombosmodulina da superfície celular (HAYASHI, 1992). NISHINAGA (1993) analisando outro mecanismo anticoagulante das células endoteliais, isto é, as interações glicosamina-glican-antitrombosmodulina III, demonstrou que as células endoteliais de aorta de porcos, tratados com homocisteína, perderam sua capacidade de ligação com a antitrombosmodulina III. LENTZ (1993) verificou que a homocisteína inibe a secreção do fator de Von Willebrand. "In vitro", a homocisteína inibe a trombosresistência das células endoteliais por redução de fatores pró-coagulantes inativando o sistema anticoagulante, suprimindo os fatores vasodilatadores e aumentando a capacidade de as plaquetas se agruparem. A homocisteína também inibe o sistema fibrinolítico dificultando a ligação do plasminogênio com o ativador do plasminogênio plasmático (LING, 2000); portanto, a homocisteína é trombogênica, aumenta a formação do tromboxano, acentua a ligação da lipoproteína em fibrina, antagoniza o óxido nítrico, aumenta a agregação plaquetária, inibe a proteína C e a trombosmodulina e ativa o fator XII da coagulação.



### 2.1.2 HOMOCISTEÍNA E DOENÇA VASCULAR

A homocisteína total plasmática elevada é reconhecida como fator de risco independente para a doença arterial coronariana, cerebrovascular e vascular periférica. Em 1991, CLARKE comparou os níveis de homocisteína após sobrecarga com metionina em pacientes com doença vascular precoce com menos de 55 anos de idade, com aqueles níveis em indivíduos normais. Foi observada hiper-homocisteinemia em 42% dos pacientes com doença vascular cerebral, 28% com doença vascular periférica e 30% com doença arterial coronariana, porém em nenhum dos indivíduos do grupo controle. Após ajuste para os fatores de risco convencionais, a chance ao acaso para a doença vascular em pacientes com hiper-homocisteinemia foi de 3,2, valor este, mais elevado que aquele para o tabagismo ou para a hipercolesterolemia. Aproximadamente 80% dos pacientes portadores de concentrações elevadas de homocisteína apresentaram baixa atividade da cistationina- $\beta$ -sintetase. CLARKE (1991) concluiu que a hiper-homocisteinemia é fator de risco independente para a doença vascular, incluindo coronariopatia; e a deficiência parcial da cistationina- $\beta$ -sintetase foi a causa mais freqüente da hiper-homocisteinemia, mesmo quando os níveis de vitamina B12 e folatos eram mais baixos em pacientes com concentrações elevadas de homocisteína. Estudos da Cleveland Clinic e outros centros, nos Estados Unidos e Europa, sugerem maior risco de doença cardiovascular, associados à elevações crescentes na concentração de homocisteína plasmática (ROBINSON, 1996).

Acredita-se que novas pesquisas ajudarão a identificar mais precisamente o nível de homocisteína que predispõe à doença vascular, e melhor definição das concentrações normais. Em estudo realizado em dezenove centros localizados em nove países europeus analisando 750 casos de doença vascular aterosclerótica (cardíaca, cerebral e periférica), observou-se que indivíduos com níveis de

homocisteína plasmática total em jejum iguais ou superior a 12  $\mu\text{mol/litro}$  e, após sobrecarga de metionina, níveis iguais ou superiores a 38  $\mu\text{mol/litro}$ , ou seja, compreendidos no quinto superior da distribuição controle, apresentavam aumento de duas vezes no risco para doença vascular, comparados com os quatro quintos restantes. Este nível de risco foi equivalente ao da hipercolesterolemia ou do tabagismo e aplicado a todas as categorias de doença vascular. O risco estimado foi também independente do efeito de outros fatores de risco (GRAHAM, 1997).

Em outro estudo realizado em 1997, NYGARD analisou o valor prognóstico da homocisteína. Foi estudada prospectivamente a relação entre os níveis de homocisteína plasmática e a mortalidade de 587 pacientes com doença arterial coronariana comprovada angiograficamente. Após o seguimento médio de 4,6 anos, 64 pacientes (10,9%) tinham falecido; destes, 3,8% apresentavam níveis de homocisteína abaixo de 9  $\mu\text{mol/litro}$ , e 24,7% níveis iguais ou superiores a 15  $\mu\text{mol/litro}$ . Os autores concluíram que os níveis elevados de homocisteína plasmática são indicadores de mortalidade em pacientes com doença arterial coronariana.

O risco associado à hiper-homocisteinemia depende da sua concentração plasmática e não da sua associação aos fatores de risco tradicionais para a aterosclerose, sendo estimado em 1,4 vezes para cada 5  $\mu\text{mol/litro}$  de aumento do total da homocisteína plasmática (ANDREOTTI, 1999). A homocisteína elevada no plasma acima de 95% está associada com 2 a 3 vezes o risco relativo de trombose venosa e embolismo pulmonar (WUILLEMIN, 1999). A hiper-homocisteinemia, também, está associada ao aumento da hiperplasia intimal nos enxertos venosos (BEATTIE, 1999).

Um estudo, realizado na Universidade Federal do Paraná em 195 pacientes com idade inferior a 55 anos, submetidos à cinecoronariografia, indicou que pacientes com doença arterial coronariana apresentam níveis de homocisteína plasmáticos mais elevados do que indivíduos sem esta doença, mostrando que isso se comporta como fator de risco para aterosclerose coronariana (SOUZA, 1997).

A homocisteína plasmática não apresenta correlação com outros fatores de risco para aterosclerose, como: hipertensão arterial, diabetes melito, tabagismo, sedentarismo, história familiar de coronariopatia, colesterol, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicérides, apolipoproteínas AI, AII, B e E, Lp (a) e fibrinogênio (CLARKE, 1991; GRAHAM, 1997; SOUZA, 1997).

Diversos estudos prospectivos, caso-controle e longitudinais, demonstraram o seguinte: nos pacientes que desenvolveram complicações ateroscleróticas, os níveis de homocisteína eram consideravelmente mais elevados do que aqueles que não apresentavam a doença (BOUSHEY, 1995). Níveis acima de 15  $\mu\text{mol/l}$  duplicaram o risco de apresentar doenças cardiovasculares (BOERS, 2000). Os níveis plasmáticos de homocisteína correlacionam-se com idade, sexo masculino, tabagismo, hipertensão arterial, níveis de colesterol e sedentarismo; mas mesmo após ajuste para estes, seu papel como fator de risco permanece (NYGARD, 1995; MAYER, 1996). Assim como a doença coronária, a doença aterosclerótica da carótida e a trombose venosa profunda também são mais prevalentes em indivíduos com níveis elevados de homocisteína (SELHUB, 1995; DEN HEIJER, 1996).

Diversos mecanismos explicam os possíveis efeitos aterogênicos da homocisteína como, por exemplo, o efeito citotóxico direto da homocisteína sobre as células endoteliais e, possivelmente, sobre a síntese de prostaciclina (JONES, 1994). Tem sido sugerido seu efeito sobre as plaquetas, o que aumenta sua adesividade e

agregabilidade e favorece a trombose. Além disso, alguns estudos também demonstraram efeitos sobre fatores da coagulação, e isto criou condições para a trombofilia com ativação do fator V (MAYER, 1996).

A lipoproteína de baixa densidade (LDL), maior proteína de transporte do colesterol no plasma humano, é fator de risco estabelecido para a aterosclerose (KANNEL, 1987). A LDL pura não é fagocitada pelos macrófagos ou células musculares lisas em quantidade suficiente para causar acúmulo de lipídio intracelular. Quando o LDL é modificado pela oxidação, é reconhecido pelo receptor específico, que é diferente do receptor LDL. Este receptor existe nas células endoteliais e nos macrófagos. Os macrófagos fagocitam LDL oxidado e são convertidos em células espumosas. O seu acúmulo na íntima da parede arterial é o primeiro evento na aterogênese (STEINBERG, 1989). A interação de homocisteína, lipoproteínas e colesterol envolve processo oxidativo alterado dentro da célula e desenvolve a placa de ateroma. A alta reatividade da forma anidra da homocisteína-tiolactona causa elevações nos níveis de triglicérides, LDL e colesterol em animais de laboratório. Esta forma de homocisteína também reage em LDL e produz um agregado, forma densa de lipoproteína, que é fagocitada pelo macrófago, para formar as células espumosas. A homocisteína deste agregado, que é formado por ligações peptídicas entre os aminoácidos e os grupos amina da apoproteína B, modifica os processos oxidativos e biossintéticos das células da parede arterial, promovendo aterosclerose (NARUSZEWICZ, 1994). Segundo MC CULLY (1996), esta interessante interação de homocisteína e lipoproteínas no processo aterosclerótico pode ajudar a entender por que alguns pacientes podem estar livres da aterosclerose, apesar dos níveis elevados de lipoproteínas e colesterol, e por que outros pacientes podem ter a doença, apesar de níveis de LDL e colesterol normal ou baixo. Com a evolução dos exames laboratoriais permitindo-se dosar homocisteína total, homocisteína agregada à lipoproteína e homocisteína das lipoproteínas, será possível avaliar com maior

precisão os riscos nestes casos. Atualmente, já existe um trabalho que relaciona homocisteína e lipoproteína no aumento do risco de coronariopatia em adultos jovens, realizado na Cleveland Clinic em 750 homens e 430 mulheres com homocisteína igual ou superior  $17\mu\text{mol/l}$  e lipoproteína igual ou superior  $30\text{mg/dl}$ . Neste estudo, os resultados mostram que o aumento da homocisteína e da lipoproteína aumenta, também, o risco de doença arterial coronária (FOODY, 2000).

A homocisteína também é trombogênica: aumenta a formação de tromboxano, incrementando a ligação da lipoproteína e fibrina, antagoniza óxido nítrico, aumenta agregação plaquetária no sítio de dano na íntima arterial, inibindo a proteína e a trombomodulina e ativando o fator XII da coagulação (MC CULLY, 1996). Por meio destes diferentes estudos, os principais processos celulares e fisiopatológicos, pelos quais a homocisteína promove a aterogênese, foram delineados. Devido aos fatores dietéticos, genéticos, tóxicos ou hormonais, há uma diminuição na remetilação ou transulfuração da homocisteína-tiolactona, levando a uma produção aumentada de homocisteína-trilactona, a partir da metionina. Homocisteína-tiolactona em excesso se liga a LDL e forma os agregados que são transportados no sangue e fagocitados pelos macrófagos vasculares na íntima arterial, formando as células espumosas. Estas células liberam lipídeos e colesterol, formando placas fibrolipídicas. A homocisteína tiolactona é também liberada das células espumosas e facilita a conversão dos tioretinaco ozonide das mitocôndrias em tiocos, resultando na hiperplasia e fibrose das células musculares lisas. A conseqüente produção aumentada de radicais de oxigênio causa dano intimal, oxida tioretinamida para sulfato de glicosaminoglicanas, ativa elastase, incita a trombogênese e aumenta o depósito de cálcio, formando a característica patológica da placa aterosclerótica. Outra questão importante referente aos efeitos da homocisteína no metabolismo oxidativo foi levantada, investigando derivados antineoplásticos sintéticos da homocisteína-tiolactona. Os resultados desses estudos levaram a uma nova teoria da participação dos derivados sintéticos,

tioretinamida, tioretinaco e tioco, na fosforilação oxidativa e no controle do crescimento celular (MC CULLY, 1993; MC CULLY, 1994). Sabe-se há longo tempo que distúrbios no metabolismo oxidativo estão associados à aterogênese, e estudos ultra-estruturais em animais envolvem a mitocôndria como um sítio primário para a indução da aterogênese pela homocisteína (MC CULLY 1996). Anormalidades mitocondriais similares são observadas no fígado em todos os tipos de homocistinúria humana. Esses estudos reforçam a visão teórica de que distúrbios na fosforilação oxidativa, catalisados pelo tioretinaco-ozonide, são causados por ação da homocisteína na função mitocondrial (MC CULLY, 1993; MC CULLY, 1994). A perda presumida de sítios ativos para o metabolismo oxidativo pela conversão do tioretinaco em tioco, pela homocisteína-tiolactona, é responsável não somente pelo acúmulo de radicais de oxigênio intracelulares e seus muitos efeitos na função celular, mas, também, explica a síntese aumentada de triglicerídeos e colesterol, que é característica da aterogênese. O colestano-triol, um oxisterol altamente aterogênico, tem efeitos sobre a ultra-estrutura mitocondrial idênticos aos da homocisteína.

Estudos em populações aparentemente normais mostram correlação inversa significativa entre a ingestão de folato na dieta e homocisteína plasmática (SELHUB, 1993). Tanto a deficiência de folato como a de vitamina B<sub>12</sub> são comuns, particularmente em indivíduos idosos e associados à homocisteína plasmática elevada (JOOSTEN, 1993). A deficiência de folato, em níveis indutores de anemia, ocorre em menos de 10% da população e a redução suficiente para causar níveis elevados de homocisteína pode ser muito comum. A elevação dos níveis da homocisteína plasmática, devido à deficiência de vitamina B<sub>6</sub>, parece menos comum, mas tem sido relatada (SELHUB, 1993; JOOSTEN, 1993; BOERS, 2000). O aumento no número de pessoas com deficiência de vitamina B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub> e folatos, que resulta em hiperhomocisteinemia está associado ao decréscimo da ingestão destas vitaminas (SELHUB, 1993). O conhecido declínio da concentração destas vitaminas em pessoas

idosas deve-se à diminuição do consumo e sua deficiente absorção. Há também nas pessoas idosas diminuição de coenzimas, que fariam absorção das vitaminas pela membrana celular e do tioretinaco-ozonide das mitocôndrias, elevando a homocisteína plasmática (MC CULLY, 1993).

A interação de dieta e a predisposição genética foram consideradas desde os primeiros estudos, mostrando que as raças orientais são susceptíveis à aterogênese, quando se valem de dietas ocidentais. Achados recentes revelam que os negros africanos são mais resistentes à homocisteinemia quando comparados aos brancos, usando a mesma dieta (UBBINK, 1995).

As mutações na enzima 5,10-metilenotetraidrofolato-redutase causavam complicações clínicas de ateromas e morte prematura (MUDD, 1972). Recentemente, tem sido demonstrado haver uma variante, muito comum, que codifica uma forma instável desta enzima. A prevalência de homozigose (+/+), heterozigose (+/-) ou normalidade (-/-) para esta enzima tem sido relatada em diferentes populações, e na maioria das comunidades, de 5 a 16% terão duas cópias do gene anormal, enquanto que, freqüentemente, metade da população total terá pelo menos uma cópia (FROSST, 1995; WHITEHEAD, 1995; VAN DER PUTT, 1995).

Estudos prévios demonstram que esta variante genética é caracterizada por uma forma termolábil da enzima nos linfócitos e pensa-se que ela esteja associada à hiper-homocistenemia moderada (KANG, 1991). Em estudo com 207 pacientes, VAN DER PUTT (1995) encontrou diferença estatisticamente significativa na homocisteína plasmática em 10 indivíduos homozigotos, comparados a 86 heterozigotos e 111 indivíduos normais. KANG (1993) mostra que a forma termolábil desta enzima era fator de risco para doença cardiovascular.

JACQUES (1996) observou que, nos homozigotos para a variante, a homocisteína somente era elevada em indivíduos cujos níveis de folato sérico estavam abaixo do valor médio. Naqueles com nível de folato sérico mais alto, os níveis de homocisteína não variam significativamente entre os três genótipos. Isto sugeriria que ter duas cópias anormais deste gene (homozigoto) elevaria a homocisteína plasmática e o risco para doença cardiovascular somente naqueles pacientes com níveis de folato baixo.

Em animais hiper-homocisteinêmicos, a ativação da elastase da célula aórtica explica a degeneração característica da elastina em placas ateroscleróticas (MC CULLY, 1996). Dos vários estudos publicados na literatura, pode-se concluir que a associação de pequenas elevações de homocisteína plasmática à doença cardiovascular é um fenômeno freqüente, e não apenas um raro erro inato do metabolismo da homocisteína. Este fato pode ser devido, principalmente, a duas situações: (1) as enzimas que metabolizam a homocisteína são dependentes, para a sua atividade, de três nutrientes: folato, vitamina B12 e vitamina B6, os quais podem estar deficientes, assim propiciando elevações dos níveis de homocisteína; (2) as enzimas são também foco de variantes genéticas anormais, que se têm mostrado muito comum nas populações estudadas.

Pacientes com nefropatia apresentam elevação na homocisteína, sugerindo que os rins controlam a homocisteína sangüínea por mecanismo ainda desconhecido. Pacientes diabéticos também apresentam homocisteína elevada em conseqüência da insuficiência renal.

Estudos revelam que dieta rica em frutas e verduras e suplementação de vitaminas B6, B12 e folatos nas dosagens de 10, 0,1 e 1mg/dia, respectivamente, diminuem a homocisteína circulante (UBBINK, 1993). Numerosos estudos mostraram



que os níveis de homocisteína plasmática são inversos aos níveis de folato, vitamina B<sub>6</sub> e vitamina B<sub>12</sub> (OLSZEWSKI, 1989; JACOB, 1994; BRATTSTROM, 1996).

Num estudo prospectivo no qual se procurou relacionar os níveis plasmáticos de homocisteína e a progressão dos sintomas da doença arterial periférica, TAYLOR (1999) concluiu que a hiper-homocisteinemia está associada à mortalidade pós coronariopatias, doenças cerebrovasculares e à progressão da doença oclusiva arterial dos membros inferiores. Nas pessoas que fumam, a nicotina antagoniza o piridoxal-fosfato, eleva a homocisteína plasmática e explica seu papel no risco elevado das doenças cardiovasculares (NYGARD, 1995).

Como podem ser observados, os trabalhos experimentais utilizam a homocisteína na forma de dieta ou injetável ou ainda nos modelos de perfusão, onde ela age diretamente nas células endoteliais. A homocisteína, quando aplicada diretamente na célula endotelial, é altamente citotóxica (CHEN, 2000).

## **2.2 CONSTITUIÇÃO DA PAREDE ARTERIAL**

A parede arterial é composta por três camadas: a íntima, a média e a adventícia. A camada íntima é composta pelo endotélio e subendotélio, sendo separada da camada média pela lâmina elástica interna. O endotélio está revestido por uma rica camada de carboidratos, ou glicocálice, que recobre de maneira contínua a face interna dos vasos, constituindo a primeira barreira entre o sangue circulante e o interstício. O subendotélio é composto por duas camadas, a primeira está situada sob o endotélio e é composta de proteoglicanas, a segunda, chamada de músculo-elástica, contém células musculares lisas, fibras elásticas e colágeno. O tecido elástico é constituído por microfibrilas e elastina, sintetizadas pelas células endoteliais e musculares lisas. Outras substâncias como a laminina, trombospodina, fibronectina e

fator de von Willebrand também compõem a estrutura do sub-endotélio. O endotélio possui um importante papel na comunicação entre o fluxo sanguíneo e a parede vascular secretando e produzindo substâncias vaso-ativas, que contribuem para a manutenção da homeostasia vascular (MONTENEGRO, 1995).

A camada média é constituída por uma série de tubos concêntricos que formam uma densa malha de fibras elásticas e de células musculares lisas. No limite mais externo desta camada está a lâmina elástica externa que a separa da adventícia. A adventícia é constituída por tecido conjuntivo frouxo, onde se encontram vasos linfáticos, nervos e os vasa vasorum (MONTENEGRO, 1995).

### **2.3 IMPORTÂNCIA DO ENDOTÉLIO NA PROTEÇÃO DA PAREDE VASCULAR**

O endotélio intacto ajuda a manter a camada média em estado quiescente através da produção de substâncias que inibem a proliferação de células musculares lisas, como o óxido nítrico, heparan sulfato, TGF- $\beta$  (fator de crescimento transformante beta), interferon-gama e prostaglandina E2. Além disso, o óxido nítrico e a prostaciclina, também sintetizados pelo endotélio, inibem a agregação plaquetária (MONTENEGRO, 1995; LUSCHER, 1997). Do ponto de vista funcional, o estado de equilíbrio favorece a vasodilatação e é antiaterogênico (em decorrência dos efeitos que incluem a inibição da agregação e da adesão plaquetária, a inibição da proliferação celular e da inibição da ativação de fatores pró-trombóticos). O endotélio é um órgão com atividades biológicas múltiplas e complexas, com repercussões importantes nas afecções cardiovasculares e em outros sistemas. Dessa forma, importantes funções têm sido atribuídas ao endotélio em processos como: a modulação do tônus vascular; a coagulação do sangue e fibrinólise; a interação de plaquetas e leucócitos com a parede celular; a interação com o metabolismo das lipoproteínas; a apresentação de antígenos de histocompatibilidade; a regulação do

crescimento vascular (VANE, 1990). A disfunção endotelial pode ser definida por estado de vasoespasmo, inflamação, adesão e agregação de plaquetas e leucócitos, trombose, proliferação vascular anormal, que predispõem ao desenvolvimento da aterosclerose e da hipertensão arterial, e participam da progressão das doenças cardiovasculares. A estímulos biológicos e mecânicos, as células endoteliais respondem com a liberação ou ativação de substâncias que regulam quatro processos celulares: crescimento celular; migração celular; modulação da composição da matriz extracelular e programação da morte celular (apoptose) (BEHRENDT, 2002). A lesão do endotélio também induz a liberação de endotelina que atua como mitógeno para célula muscular lisa vascular. Experimentalmente, a hiperplasia da íntima é mais intensa nas áreas onde a regeneração endotelial ocorre mais tardiamente (MARTINEZ, 2006).

## **2.4 TERAPÊUTICA ENDOVASCULAR**

### **2.4.1 HISTÓRICO**

A medicina teve um grande avanço quando RÖENTGEN descobriu a radiação ionizante em 1895. A euforia tomou conta da área médica diante da nova era que surgia. A cada dia apareciam novas possibilidades de utilização dos raios X. Era o início da Radiologia e, em 1896, HASCHEK e LINDENTAL realizaram o primeiro exame arteriográfico em peça anatômica (HOOD, 1999).

BERBERICH e HIRSCH, em 1923, realizaram o primeiro exame arteriográfico em um ser humano (estrôncio de bário), dando início à era da visualização do sistema vascular por exame de raio X contrastado. Em 1924, BROOKS realiza uma angiografia de membro inferior com iodeto de sódio (precursor dos contrastes iodados). Em 1928, EGAS MONIZ descreve a técnica de arteriografia cerebral, através da punção direta

da artéria carótida e em 1929, DOS SANTOS utiliza a punção trans-lombar para visualizar a aorta abdominal (JUNIOR, 2002).

Em 1929, WERNER FORSSMAN, um residente de cirurgia na Alemanha, introduziu uma sonda uretral na sua veia antecubital até o átrio direito, acompanhando pela fluoroscopia; por tal feito ganhou prêmio Nobel de Medicina em 1956. Em 1941, FARINAS desenvolveu a técnica de introdução de cateter até a aorta abdominal por dissecação da artéria femoral comum. ZIMMERMAN, em 1950, realizou um cateterismo cardíaco esquerdo pela artéria radial utilizando um cateter 6 F. Em 1959, o Dr. SONNES, da Clínica de Cleveland, descreveu pela primeira vez a angiografia coronária por dissecação dos vasos braquiais (JUNIOR, 2002).

Desde o início da segunda metade do século XX, quando SELDINGER, em 1953, publicou a técnica de cateterização percutânea (acesso vascular por punção percutânea com agulha, seguida de fio guia e cateter, para cateterismo diagnóstico do sistema vascular), a radiologia vascular sofreu um grande impulso, pois a possibilidade de se prescindir da exposição cirúrgica do vaso acessado simplificou a operação endovascular (AUN, 2003).

Em 1963, CHARLES DOTTER acidentalmente, durante uma arteriografia por cateterismo, conseguiu recanalizar uma oclusão segmentar da artéria ilíaca, com o cateter de angiografia. Em 1964, ele realizou a primeira angioplastia transluminal usando um sistema de cateteres coaxiais (angioplastia com cateter coaxial pela técnica de Dotter-Judkins). Essa técnica exigia um grande número de cateteres para dilatar os vasos mais calibrosos, fato que dificultou sua aceitação na maioria dos centros médicos (DOTTER, 1964).

O início da era dos procedimentos terapêuticos intravasculares foi em 1964, quando DOTTER e JUDKINS relataram o tratamento de lesões obstrutivas da artéria femoral superficial com a técnica de introdução percutânea de cateteres de calibre progressivo através de lesão obstrutiva a fim de obter a dilatação da estenose. Apesar de pouca repercussão e até descrédito entre os cirurgiões norte-americanos, o trabalho original de Dotter foi acolhido em alguns centros europeus. Foram estabelecidos conceitos básicos sobre as potencialidades do tratamento intraluminal e criado o termo “angioplastia transluminal percutânea” – ATP (DOTTER, 1964).

Em 1973, PORTSMAN divulgou experiência em angioplastia transluminal percutânea de artérias ilíacas e femorais por meio de um cateter com balão insuflável colocado em sua extremidade distal. O balão de látex permitia insuflação de solução salina, ou de contraste, até que se atingisse a pressão de oito atmosferas, o que tornava o lúmen regular por distensão causando a fratura da placa de ateroma (JUNIOR, 2002).

Uma técnica semelhante foi publicada por GRUNTZIG e HOPFF em 1974, com o desenvolvimento de um cateter de duplo lúmen de cloreto de polivinil utilizado inicialmente no território aorto-ilíaco-femoral. O balão em sua extremidade era distendido à medida que se aplicava a solução salina em um dos lúmens do cateter, que se distendia até um diâmetro pré-determinado. A confecção deste cateter com duplo lúmen permitia a utilização de fio-guia e facilitava a sua manipulação. O cateter podia ser introduzido através de punção percutânea e com possibilidade de ser colocado em vários pontos do sistema arterial. Em 1976 ocorreu a modificação do cateter para duplo lúmen como até hoje é confeccionado, ou seja, um lúmen para dentro do balão e um lúmen para a extremidade do cateter. A aplicabilidade da ATP ganhou maior crédito a partir de 1978 com a experiência de GRUNTZIG divulgada em publicações de 1978 e 79 (JUNIOR, 2002; AUN, 2003).

O passo seguinte foi a introdução do sistema com fio-guia, elaborado por SIMPSON em 1982, que tornou a ATP das artérias coronárias, ilíacas, femorais e viscerais um procedimento mais freqüentemente utilizado. O sistema coaxial permitia movimentação independente do fio-guia e do cateter balão. Esse processo permitiu o tratamento de artérias tortuosas e mais distais. A partir daí, o fio-guia tornou-se imprescindível em qualquer procedimento endovascular (AUN, 2003).

O resultado da ATP no tratamento das lesões arteriais obstrutivas crônicas era limitado pela incidência de reestenoses que variaram de 25% a 80% (MCBRID, 1988) em 24 meses. Assim, foram elaboradas técnicas complementares que objetivavam melhorar os resultados em longo prazo, como o uso de geradores de raio laser (SANBORN, 1987) e aterectomia mecânica (SIMPSON, 1986). Resultados mais promissores, porém, foram obtidos com o uso das endopróteses (DOTTER, 1969).

DOTTER e JUDKINS, ainda em 1964, elaboraram um pequeno tubo cilíndrico e rígido com o objetivo de fornecer suporte mecânico para manutenção da perviedade vascular. Testaram tubo plástico de "Silastic", não poroso nas artérias poplíteas e femorais de cães. Todos os implantes desta série apresentaram migração e oclusão em 24 horas. Nesta mesma publicação relataram o uso de fio de aço inoxidável, sob a forma de mola, de um a dez centímetros de comprimento. Dos cinco inicialmente implantados, dois permaneceram pérvios dois anos depois (DOTTER, 1964).

A publicação de DOTTER e JUDKINS, em 1964, foi o marco inicial para o desenvolvimento de endopróteses (stents) que, por meio de pressão mecânica, manteriam o lúmen arterial aberto e evitariam as reestenoses decorrentes do desenvolvimento da hiperplasia intimal, ou da contração resultante do tratamento de lesões fibroelásticas (JUNIOR, 2002; AUN, 2003).

O primeiro implante de endoprótese foi realizado por SWIGWART, em 1987, que utilizou um sistema auto-expansível semelhante a uma mola. Foram implantadas dez endopróteses em seis pacientes com doença vascular oclusiva periférica. Após seis meses de seguimento, todas as endopróteses colocadas permaneciam pérvias. Na mesma série, relataram a implantação de 24 endopróteses coronárias em 19 pacientes, com duas oclusões precoces (JUNIOR, 2002).

O desenvolvimento de dispositivos endovasculares que mantivessem o lúmen aberto após a angioplastia continuou, e surgiram diversos dispositivos, de várias ligas metálicas, como os de CRAGG em 1983; PALMAZ em 1984; LIBRID em 1985; STRECKER em 1987, entre outros. Embora estas próteses sejam feitas de aço inoxidável, atualmente, várias próteses são confeccionadas com nitinol, uma liga de níquel e titânio com propriedades de memória térmica que permite ser compactado firmemente dentro de um sistema de liberação quando esfriado, para expandir rapidamente e readquirir seu formato e seu tamanho pré-designados, após a liberação de seu sistema de colocação na corrente sanguínea (JUNIOR, 2002).

#### **2.4.2 FISIOPATOLOGIA DA REESTENOSE**

A reestenose, ou perda do ganho inicial no calibre do lúmen arterial após procedimento vascular, depende do grau de lesão causada pela angioplastia e pelo stent, correlacionando-se com a formação neointimal e o tamanho subsequente do vaso. Quanto mais o vaso for dilatado, maior será a lesão produzida; todavia o alargamento do vaso pode acomodar uma grande massa neointimal sem estreitamento luminal. A estenose ocorrerá somente se a perda tardia da luz do vaso for maior que o ganho após o procedimento (BRITO JR, 2002; MARTINEZ, 2006).

A intensidade da hiperplasia da íntima depende da extensão longitudinal e da profundidade da lesão na parede vascular. O comprimento da lesão influencia na duração do processo de reendotelização, uma vez que este se inicia e cresce a partir das margens da área desnuda de endotélio. Desse modo, um maior tempo para endotelização permite e facilita uma maior proliferação das células musculares. Após lesão longa e profunda da artéria femoral, em decorrência de angioplastia, a reestenose depende da hiperplasia da camada íntima e, principalmente, da remodelação da parede do vaso secundária à proliferação e infiltração de células da camada adventicial que tem a capacidade de contração e remodelação negativa do lúmen final (BRITO JR, 2002; MARTINEZ, 2006).

A reestenose ocorre em decorrência de três mecanismos principais: a retração elástica, a hiperplasia intimal e o remodelamento arterial. A retração elástica é o principal fator responsável pela perda precoce do diâmetro da luz do vaso após a angioplastia coronária. Esta ocorre em intensidade variável em resposta à distensão da parede arterial provocada pelo balão da angioplastia, tendo sido relacionada com a reestenose (BRITO JR, 2002; MARTINEZ, 2006).

A proliferação e migração de células musculares lisas e a deposição de matriz extracelular são os principais mecanismos de reestenose. A lesão ou destruição do endotélio pela angioplastia induz a agregação plaquetária e aderência de leucócitos ao leito vascular lesado. As plaquetas ativadas liberam moléculas como fibrinogênio, trombospodina, fibronectina e fator de Von Willebrand, promovendo a formação do trombo mural. Além disso, as plaquetas ativadas também liberam substâncias que induzem vasoconstrição, migração e mitose celular, como o fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento  $\beta$  transformado (TGF- $\beta$ ), fator de crescimento básico de fibroblastos



(bFGF) e fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1) (MAJESKY, 1994; CONSIGNY, 2000; COSTA, 2005).

A dissecação e a fratura da camada íntima e média da artéria aumentam a concentração local de radicais livres de oxigênio. O stress oxidativo, definido como o desequilíbrio entre a produção de radicais livres e as defesas antioxidantes do organismo durante a injúria tecidual, pode ativar genes envolvidos na resposta inflamatória. Os radicais livres são encontrados em níveis elevados nos pacientes com fatores de risco para doença arterial periférica, com tabagismo, hipercolesterolemia e diabetes. Dados experimentais sugerem que o crescimento de células musculares lisas da camada média arterial, além de ser mediado por peptídeos de crescimento, sofre o efeito estimulador direto dos radicais livres na sua capacidade mitótica por meio do aumento do cálcio intracelular, da ativação da proteína quinase, do aumento da expressão de proto-oncogenes e da estimulação da síntese de DNA (BRITO JR, 2002; MARTINEZ, 2006).

A formação da hiperplasia intimal consiste de três processos: replicação celular, migração celular e acúmulo de matriz extracelular na parede arterial. Estudos experimentais revelam que a primeira onda de lesão consiste na replicação de células musculares lisas dentro da camada média arterial, durante os primeiros dois dias após a lesão, envolvendo o fator de crescimento básico de fibroblastos (bFGF). A segunda onda de lesão envolve migração das células musculares lisas de sua posição normal, na túnica média, para a camada íntima. O fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) tem um papel importante neste mecanismo, agindo por quimioatração e não por mitogênese, além da ação das enzimas, que permitem a passagem das células musculares lisas pela lâmina elástica interna que contém fenestrações e pela matriz extracelular. A síntese e o acúmulo de matriz extracelular, observados ao redor da estrutura do stent dependem mais de colágeno, elastina e proteoglicanas do que da

replicação celular dentro da camada íntima e constitui a terceira onda de lesão, levando à formação da nova íntima hiperplásica com pico entre uma e duas semanas após a lesão (CLOWES, 2000; COSTA, 2005).

Em modelos suínos, 24 horas após o implante do stent, observa-se a presença de fibrina, plaquetas, monócitos e leucócitos polimorfonucleares. Em sete dias, o trombo apresenta organização, estando associado com macrófagos, neutrófilos e células musculares lisas. De duas a quatro semanas, a predominância é de proliferação de células musculares lisas. Há ainda reação das células gigantes multinucleares à estrutura do stent. As camadas profundas tornam-se menos celulares e com mais colágeno, enquanto que as camadas superficiais continuam celulares e com matriz extracelular (BAYES-GENIS, 2000).

#### **2.4.3 REMODELAMENTO GEOMÉTRICO**

A reestenose pós-angioplastia é uma complicação freqüente. Pode ser causada pelo recuo da parede arterial ou pela progressão da doença aterosclerótica. Estudos recentes, tanto em nível experimental como em humanos, demonstram que a parede arterial é capaz de reagir à agressão sofrida com uma resposta que modifica a área luminal através do aumento ou diminuição da área total do vaso. Este processo, denominado de remodelamento geométrico arterial, representa uma resposta adaptativa do vaso sangüíneo a diferentes formas de estresse. Fisiologicamente, o remodelamento geométrico visa a adaptar o diâmetro de uma artéria às variações hemodinâmicas, mediante modificações na circunferência do vaso e por alterações estruturais da parede vascular. (GLAGOV, 1987). A redução do lúmen vascular determinada pela placa aterosclerótica é compensada pela dilatação do segmento afetado, na tentativa de compensar o estreitamento do diâmetro luminal. Com a

evolução da aterosclerose, há uma aparente perda desta capacidade compensatória, permitindo que a estenose coronária se estabeleça (GLAGOV, 1987; GE, 1993).

O remodelamento vascular também faz parte da resposta vascular pós-angioplastia. O fenômeno de remodelamento geométrico negativo (CURRIER, 1995) ocorre após a dilatação de uma obstrução segmentar em um vaso aterosclerótico, devido à disfunção nos mecanismos de remodelamento, o que resulta em redução do lúmen arterial.

Estudos experimentais e clínicos têm demonstrado que a constrição arterial, ou remodelamento geométrico negativo pós-angioplastia, é um importante determinante da redução do lúmen coronário. Experimentalmente, a angioplastia de coelhos normais ou suínos submetidos à dieta aterogênica demonstrou que apenas parte da perda luminal angiográfica era devida à hiperplasia da íntima; mais de 50% devia-se à redução na área delimitada pela lâmina elástica interna (área da LEI), produto do remodelamento geométrico negativo (POST, 1994).

Em outro experimento, a comparação das áreas de artérias ilíacas de animais que apresentaram ou não reestenose demonstrou, surpreendentemente, que a área da neo-íntima era similar nos dois grupos. A diferença na área luminal era consequência da variação na área da LEI. Embora essa área aumentasse em todos os vasos que desenvolveram hiperplasia da íntima, o aumento era proporcionalmente menor nos vasos reestenóticos, denotando uma dilatação compensatória inadequada para o aumento da placa. Nos vasos não reestenóticos o espessamento da íntima estava associado a um maior aumento na área da LEI, preservando, assim, o lúmen arterial (KAKUTA, 1994). LAFONT (1995) também demonstrou, em animais de experimentação, que a redução no diâmetro luminal pós-angioplastia está mais bem correlacionada com modificações na área do vaso do que com a hiperplasia da íntima.

Entretanto, GERTZ (1994), em estudo experimental em coelhos, demonstrou que a reestenose era devida, principalmente, à hiperplasia da íntima; o remodelamento geométrico negativo, definido como a redução da área delimitada pela lâmina elástica externa (área da LEE), foi demonstrado em apenas 10 a 16% dos vasos reestenosados.

Tem sido demonstrado que o remodelamento geométrico vascular está envolvido na reestenose pós-angioplastia em humanos. O ultra-som intravascular permite a avaliação do remodelamento através da visualização ecográfica da secção transversal das artérias coronárias. Análises quantitativas seriadas com ultra-som intracoronário em pacientes submetidos à intervenção com cateter-balão, eximer-laser, aterectomia direcionada ou rotacional demonstram que a variação no diâmetro luminal é determinada principalmente pela direção e magnitude da variação no diâmetro externo do vaso (MINTZ, 1996). Aproximadamente 30% da redução do lúmen se devem à variação na espessura da parede vascular; os 70% restantes são determinados pela redução na área da LEE. Pressupõe-se que esta redução generalizada no calibre vascular seja mediada por uma fibrose contrátil da parede vascular, processo que poderia ocorrer associado, ou não, à hiperplasia intimal (MINTZ, 1996). Por sua vez, em pacientes submetidos à implantação de stents o remodelamento negativo é bastante reduzido e sua participação na determinação da reestenose é mínima (HOFFMANN, 1996).

Fisiologicamente, as variações no fluxo sanguíneo e na pressão arterial parecem ser os principais determinantes do remodelamento. O fluxo sanguíneo regula o diâmetro vascular através do shear stress (Shear stress ou estresse de cisalhamento: força interna tangencial à secção na qual ela age; ação ou estresse resultante de forças aplicadas que causam, ou tendem a causar o deslizamento de duas partes contíguas de um corpo, relativamente uma a outra, em direção paralela

aos seus planos de contato). Em situação de fluxo laminar, o shear stress é diretamente proporcional à velocidade do fluxo e à viscosidade sangüínea, e inversamente proporcional ao cubo do raio do vaso (LIU, 1989). Um aumento do fluxo sangüíneo induz ao aumento compensatório no raio vascular, de forma a normalizar o shear stress (LANGILLE, 1989). Por sua vez, as alterações no raio do vaso afetam a espessura, estrutura e composição da parede (DOBRIN, 1989; GLAGOV, 1993) e não resultariam da simples contração ou relaxamento das células musculares (LANGILLE, 1986). Há evidências de que a resposta às alterações de fluxo seja dependente do endotélio. Experimentalmente, a capacidade de adaptação do diâmetro do vaso às alterações de fluxo é restabelecida em segmentos que apresentam regeneração endotelial, não ocorrendo o mesmo em regiões não reendotelizadas (JAMAL, 1992). A resposta fisiológica do endotélio a um aumento do shear stress inclui a indução da liberação de óxido nítrico e de prostaciclina, que, provavelmente, atuam no remodelamento (LIU, 1989).

A fisiopatogenia do remodelamento geométrico negativo ainda é pouco conhecida. Segundo LAFONT (1995), as modificações de fluxo sangüíneo, em consequência das alterações sofridas pela parede vascular no processo de cicatrização da lesão pós-angioplastia, seriam algumas das causas do remodelamento negativo.

O estresse oxidativo pode participar do remodelamento após a lesão mecânica do vaso. A utilização de agentes antioxidantes em estudos farmacológicos experimentais tem conseguido modular o remodelamento geométrico vascular. Em coronárias de suínos, a administração de vitaminas C e E reduziu o remodelamento negativo, determinando um aumento significativo da área da LEI após a angioplastia com balão. Surpreendentemente, a área da neo-íntima foi significativamente maior no grupo tratado do que no grupo controle (NUNES, 1995). Em outro estudo, o tratamento

prolongado com N-acetilcisteína ou alopurinol preservou o diâmetro vascular, quando analisado nos primeiros sete dias após a lesão por balão da artéria ilíaca de coelhos; porém, após 28 dias, este efeito benéfico foi perdido (LAURINDO, 1996). Estes dois experimentos sugerem que a intervenção farmacológica sobre o estresse oxidativo poderia modular o remodelamento geométrico negativo associado à lesão mecânica do vaso.

O remodelamento geométrico também está associado a modificações estruturais da parede vascular. Experimentalmente, a redução no diâmetro arterial correlaciona-se com o quociente área de adventícia/área da íntima-média, o que sugere que as variações no diâmetro arterial possam ser consequência de alterações estruturais múltiplas sofridas pela íntima, média e adventícia (LAFONT, 1995). Também foi demonstrado que, após a ACTP experimental, há proliferação e modulação fenotípica de fibroblastos na adventícia (SCOTT, 1996; SHI, 1996), seguida de deposição de matriz extracelular rica em colágeno (SHI, 1996). Esta reação fibrótica após a injúria arterial pode determinar retração tecidual e constrição vascular, contribuindo para o remodelamento geométrico negativo. A resposta inflamatória associada à dilatação do vaso também poderia determinar uma resposta similar à cicatrização, com liberação de enzimas proteolíticas, degradação da matriz extracelular preexistente e deposição de novos componentes da matriz.

#### **2.4.4 MECANISMOS DE REESTENOSE NAS DIFERENTES TÉCNICAS DE ANGIOPLASTIA**

A participação relativa de cada mecanismo de reestenose é ligeiramente variável para cada método de angioplastia. Após angioplastia por cateter-balão, rotablator e laser, é provável que o remodelamento geométrico negativo seja o principal mecanismo de reestenose; sua participação é pouco menor após a

aterectomia direcionada e mínima após o implante de stents (MINTZ, 1993, 1995). O stent praticamente elimina o remodelamento negativo (HOFFMANN, 1996) pois sustentando mecanicamente a parede coronária, impede que haja redução no diâmetro vascular. Contudo, há evidências de que a hiperplasia da íntima é mais intensa com stents. Experimentalmente, há maior hiperplasia da íntima após o posicionamento de stents do que após a dilatação com cateter-balão de coronárias de suínos (KARAS, 1992). Clinicamente, a angiografia seriada após a implantação de stents demonstra que a redução no calibre vascular prossegue pelo menos até o 6º mês, sendo que entre o 3º e o 6º é significativamente maior do que após a angioplastia convencional (KIMURA, 1993). Após o 6º mês, a redução no diâmetro luminal continua a ocorrer, porém é de pequena magnitude, pouco aumentando a incidência absoluta de reestenose (KASTRATI, 1993; KIMURA, 1996).

Os mecanismos que levam a maior espessamento da íntima com o uso de stent não foram determinados, mas pode-se inferir que os seguintes aspectos estejam envolvidos: a) lesão vascular mais intensa no seu posicionamento; b) presença continuada de um corpo estranho; c) tensão mecânica crônica na parede vascular; d) reendotelização retardada. Os três últimos aspectos agiriam como estímulo crônico para a proliferação celular. Além disso, a trombose mural mais intensa que ocorre após a implantação de stents parece servir como um nicho para a subsequente proliferação intimal. O uso de stents reduz consideravelmente a incidência de reestenose por permitir que seja obtido um melhor resultado primário (menor lesão residual) e por eliminar o remodelamento geométrico negativo, o que determina maior tolerância à hiperplasia da íntima, reduzindo a possibilidade de que ocorra redução significativa no lúmen arterial (CARAMORI, 1997).

## 2.5 STENTS

Stents são estruturas tubulares metálicas em forma de malha inseridas na luz vascular cuja função é manter a perviedade do vaso. (LOBATO, 2006). O termo “stent” vem do epônimo CHARLES THOMAS STENT (1807-1885), dentista que criou um material moldável com a finalidade de manter em posição enxertos de pele na cavidade oral. Em relação à opção pela forma de inserção, classificam-se em: stent direto (implante do dispositivo antes da dilatação por balão); stent primário (inserção pré-determinada após ATP) e implante seletivo de stent (inserção após resultado subótimo da ATP). A maioria dos stents é implantada de forma seletiva, sendo indicado em estenose residual, recuo elástico, resultado ruim com gradiente pressórico, complicações como dissecação ou “flap” intimal, ulcerações de placa, oclusões e reestenose. Já o stent primário pode ser empregado em caso de oclusões, lesões de alto risco para reestenose e lesões maiores que oito centímetros, difusas, excêntricas ou ulceradas. Seu uso é limitado em casos de tortuosidade severa do vaso e lesões muito calcificadas (SCHNEIDER, 2003; LOBATO, 2006; PUECH-LEÃO, 2006).

Os stents podem ser distinguidos por vários fatores, como: o mecanismo de implante (auto-expansivo, balão expansivo ou memória térmica), a geometria (formato dos anéis – “células abertas ou fechadas”), o tipo de malha formada pelas hastes de metal, o seu desenho estrutural (tubular ou mola) e sua composição metálica (NELKEN, 2004).

Os stents auto-expansivos vêm comprimidos por fina membrana de plástico sobre cateter de pequeno calibre, (ex: Wallstent®) ou vêm comprimidos no interior de catéteres de maior diâmetro (ex: Craggstent®). Ao serem daí ejetados, expandem-se para o diâmetro da luz do vaso previamente dilatado, por um balão de angioplastia,



para seu diâmetro normal. Estes stents possuem alta flexibilidade o que permite a expansão a um limite pré-determinado, após a remoção da bainha introdutora. Eles são relativamente fáceis de implantar, porém apresentam pequena resistência à compressão radial. Podem sofrer encurtamento e não são liberados com muita precisão como os expansíveis por balão. Estes stents estão indicados nas seguintes localizações: eixos aorto-ilíaco e femoro-poplíteo, carótidas e lesões não ostiais da artéria subclávia. Exemplos: Wallstent, Zilver (Cook), Gianturco Z (Cook), Smart (Cordis), Symphony (Boston Scientific), Cragg e Corvita (LEUNG, 2003; NELKEN, 2004).

Os stents expansíveis por balão são colocados com maior precisão e apresentam boa resistência à compressão radial, entretanto possuem pouca elasticidade e pouca flexibilidade longitudinal, podendo ser reinflado com um balão maior. Devido à alta força radial, estes stents têm preferência em lesões ostiais e em locais com calcificações e com compressão externa. Os locais contra-indicados para tais stents são os próximos às articulações, em volta de ossos e ligamentos e junto a pontos de flexão. Eles se abrem normalmente das pontas para o centro de maneira a se fixarem na parede. Então, o deslocamento do material da parede se faz da periferia para o centro da lesão, diminuindo a chance de embolização. Assim, estes stents estão indicados nas seguintes localizações: eixo aorto-ilíaco, artérias renais, lesões ostiais da artéria subclávia e lesões orificiais dos troncos supra-aórticos. Exemplos: Palmaz (Cordis), Strecker (Medi-tech), Flexstent (Cook), Bridge e VIP (Medtronic), Perflex (Cordis), Jostent (Jomed) (LEUNG, 2003; NELKEN, 2004).

As diferenças e vantagens entre stents auto-expansíveis e expansíveis por balão são amplamente estudadas em modelos experimentais. CHUAPETCHARASOPON (1992), implantou stents expansíveis por balão e stents auto-expansíveis em artérias ilíacas de suínos submetidos à dieta aterogênica. O

resultado foi uma hiperplasia intimal muito mais acentuada no grupo em que foram utilizados os stents expansíveis por balão, resultado que foi atribuído ao maior trauma da parede vascular pela expansão do balão. MANGELL (1996) comparou a utilização destes dois tipos stents no crescimento de aorta de porcos por um período de 4 a 18 semanas. O peso dos porcos aumentou de uma média de 20kg para 93kg e o diâmetro da aorta dos animais aumentou 60%. Os stents expansíveis por balão não mostraram movimento pulsátil e estavam sujeitos ao descolamento da parede do vaso, ao passo que, os stents auto-expansíveis seguiram a mudança de diâmetro do vaso sem afetar a expansibilidade após 18 semanas, além da boa fixação, apesar da dilatação do vaso. ANDREWS (1999), implantou stents auto-expansíveis em artérias e veias femorais de suínos próximos a articulação coxo-femoral e concluiu que estes stents, quando colocados em regiões de articulação e em veias, têm risco maior de desenvolver hiperplasia intimal e, eventualmente, até oclusão em comparação àqueles colocados em vasos com pouca mobilidade e em artérias.

Os stents com expansão térmica assumem os seus formatos originais após exposição à temperatura corporal. O protótipo é o stent de nitinol, tendo como exemplos: Cragg Nitinol (Mintec), Memoherm (Angiomed Bard), VascoCoil (Medtronic).

Alguns autores destacam as propriedades ditas ideais de um stent intravascular, por exemplo: alta opacidade para melhor visualização, facilitando o implante; grande força radial para resistir ao remodelamento elástico; mínima variação de formato depois de implantado para aumentar a precisão; sistema de implante simples e de fácil manuseio; flexibilidade longitudinal para cruzar vasos tortuosos e a bifurcação aórtica; elasticidade radial para resistir à compressão externa sem deformação permanente, sobretudo em locais de articulação; pequeno perfil com grande expansão para passar por pequenos introdutores e estenoses críticas; mínimo encurtamento após a liberação; fácil resgate para o caso de falha na implantação;

ramo lateral acessível; mínima indução de hiperplasia intimal; resistência à trombose e à corrosão; durabilidade e baixo preço (HENRY, 2000; LEUNG, 2003; MONTEIRO, 2006).

O comportamento biomecânico e o desenho dos stents têm efeito importante nas respostas do hospedeiro à presença do stent. A distensibilidade radial e a flexibilidade longitudinal afetam a perviedade em longo prazo dos stents. Um aumento na complacência e na flexibilidade pode ter um efeito negativo pela estimulação da atividade fibromioblástica e pela interferência com a endotelização (NELKEN, 2004).

A arquitetura dos stents é composta de anéis que podem ser tanto uma montagem individual como uma acumulação seqüencial em um padrão de repetição. Os anéis individuais podem ser simplesmente acoplados uns aos outros, similar ao stent Gianturco Z (Cook). Este tipo é, atualmente, utilizado em endopróteses e para vasos de grosso calibre como a veia inominada e a veia cava superior. O outro tipo é a junção seqüencial de anéis, utilizando uma variedade de conexões que também conferem propriedades aos stents. Os espaços entre os anéis são chamados de células, que podem ser fechadas (os elementos estão muito ligados, como “favo de mel”) e abertas (as conexões são deixadas abertas). O stent de Palmaz original é um tubo cortado a laser, balão expansível que cria uma rede de quatro células fechadas. Estas células são conectadas entre si geometricamente através de conectores não flexíveis. O resultado é geometricamente simples e produz uma estrutura forte e durável em áreas que não estão sujeitas às forças de quebra ou que demandam flexibilidade. Esta falta de flexibilidade pode causar problemas não apenas em áreas de tortuosidade mas, também, em alvos retos com acessos difíceis (ilíaca contra lateral no caso de uma bifurcação aórtica com ângulo muito agudo). Mesmo se uma bainha consegue ser colocada com sucesso, o stent pode não ter capacidade de avançar-se através da torção da bainha. Os primeiros “conectores flexíveis”,

desenhados por PALMAZ e SCHATZ eram fios metálicos retos e simples entre segmentos de células que conferiram um grau de flexibilidade entre seqüências de segmentos inflexíveis da rede de células, semelhantes às conexões de vagões de trem. A geometria específica da conexão, por si só, concede grau de flexibilidade longitudinal, radial e de torção. Atualmente, existe uma grande variedade de tipos de conectores que se esticam em qualquer direção, não apenas em resposta à expansão pelo balão, mas também à tortuosidade e irregularidade do vaso. Geralmente, os stents com células fechadas têm a vantagem de obter uma cobertura mais uniforme do vaso e os com células abertas têm uma maior flexibilidade; porém estes provêm menor suporte, com chance de cobertura inadequada, especialmente em vasos tortuosos nos quais a torção do stent torna umas células mais abertas que outras (NELKEN, 2004).

Os stents com malha do tipo “trançada” (braided stents), como, por exemplo, o Wallstent, apresentam boa visibilidade, flexibilidade e, antes da liberação total, têm a vantagem de recolhimento de até 87% do stent no dispositivo; as desvantagens incluem: o encurtamento e a dissecação intimal causada pelo alargamento dos limites distais do stent, se o dispositivo de liberação for empurrado inadvertidamente durante a liberação (ROUSSEAU, 1987). Embora sejam flexíveis estes stents possuem bastante rigidez tanto que, em superfícies irregulares, o stent não se amolda bem, mas sim se alarga gradualmente, deixando espaço entre o stent e a parede arterial (baixa conformidade). Uma melhor conformidade do stent com a parede arterial pode reduzir a reestenose. ROLLAND (1995) demonstrou que ao colocar stents de conformidade adaptada ao vaso (compliance matching stent) em carótidas de suínos, a taxa de reestenose foi menor. Atualmente, quando se utilizam stents auto-expansíveis, recomenda-se sempre utilizar os de nitinol cortados a laser, que apresentam um encurtamento de menos de 3%. Os de nitinol trançados apresentam um encurtamento

que pode alcançar até 50% do comprimento original do stent, quando dentro da bainha de liberação.

Os stents também podem ter a forma de espiral (coil stent) que minimiza o recuo elástico e sela os pontos de dissecação. Sua melhor utilização são os pontos de flexão, como as lesões localizadas na artéria poplítea atrás do joelho. Não foi relatada melhora estatisticamente significativa na taxa de revascularização em nove meses quando comparado com a ATP. Entretanto, foi relatada uma melhora significativa no índice T/B e baixa taxa de complicação com seu uso (JAHNKE, 2002).

A escolha do melhor stent a ser utilizado em cada caso depende da anatomia arterial e da morfologia da lesão. Na presença de anatomia tortuosa, os stents com células abertas e mais flexíveis têm preferência. Quando existe uma diferença de diâmetro significativa entre a artéria carótida comum e a interna, são selecionados stents de cobalto-cromo (Elgiloy), ou stents cônicos de nitinol. Lesões com alto potencial emboligênico são tratadas com stents com a configuração de células fechadas, enquanto que lesões muito calcificadas necessitam ser tratadas com stents de nitinol. (BOSIERS, 2005).

Os stents podem ser confeccionados em diversos materiais, como o aço inoxidável 304 SS, 316L SS, tântalo, elgiloy (SS), platina, liga de cobalto e nitinol. DYET (2000) cita que os stents de aço inoxidável da série 316L apresentam boa biofuncionalidade, (grau que o metal se adapta para exercer determinada função) e boa biocompatibilidade (grau que o metal permanece inerte após ser implantado no sistema arterial sem provocar reação do tipo corpo estranho ou liberar íons tóxicos). GOTMAN (1997) refere que os stents de aço inoxidável são constituídos de uma liga composta de ferro, cromo e manganês, possuindo também traços de outros metais, como, por exemplo: molibdênio, manganês, cobre e carbono. Apesar de esses outros

elementos constituírem uma pequena amostra do total, estes podem alterar a estrutura cristalina do metal, assim como as propriedades da liga metálica. Um dos mais importantes constituintes dos dispositivos de aço inoxidável utilizados para fins médicos é o cromo. Uma concentração de pelo menos 12% de óxido de cromo é necessária para revestir a superfície externa do metal, com o intuito de evitar a corrosão a que o metal está exposto na corrente sanguínea.

O nitinol é uma liga de níquel e titânio com propriedades de memória térmica que permite ser compactado firmemente dentro de um sistema de liberação quando esfriado, para expandir rapidamente e readquirir seu formato e seu tamanho pré-designados, após a liberação de seu sistema de colocação na corrente sanguínea. Além disso, possui grande elasticidade e resistência à fratura. A palavra NITINOL é a sigla de Nickel Titanium Naval Ordnance Laboratories e esta liga metálica foi inicialmente desenvolvida para fins militares (BARRAS, 2000). Entretanto, em stents de nitinol ocorre a liberação de níquel, que é um dos responsáveis pela hiperplasia intimal. O níquel é um componente normal da dieta, mas sua exposição a níveis elevados pode acarretar sérios problemas respiratórios, reações alérgicas locais e sistêmicas e inibição da reprodução celular. Por outro lado, o titânio aparenta ser inerte. O níquel e o titânio formam uma liga metálica extremamente forte, sendo o nitinol resistente a oxidação do níquel, que poderia liberar íons deste metal e aumentar o risco de reações adversas. Da mesma forma que os stents de aço inoxidável, os de nitinol quando implantados dentro do sistema vascular, ficam recobertos por uma fina camada de óxido. Neste caso, entretanto, forma-se o óxido de titânio que estabiliza a superfície interna do stent e previne assim a reação dos íons níquel com os tecidos do corpo humano (BARRAS, 2000). A fratura de stents de nitinol pode estar relacionada ao polimento e ao revestimento da superfície do stent com óxidos amorfos (SHIH, 2000; RIEPE, 2002).

Uma série de processos celulares e moleculares contribui na cicatrização intravascular dos stents. Este processo de cicatrização reflete uma resposta programada, tipo corpo estranho, à implantação no sistema vascular e resulta em quatro tipos de tecido: trombo, neointima, endotélio e infiltrado de células inflamatórias. A localização e a extensão de cada tipo destes quatro tecidos são influenciadas por vários fatores relacionados ao próprio implante da endoprótese, como a localização da malha metálica do stent, o tipo de enxerto que o reveste, a microestrutura e a porosidade da endoprótese (DOLMATCH, 2000).

A aspereza da superfície, a carga elétrica, a energia de superfície livre e a umidade são características físicas da superfície do stent com determinantes importantes de trombogenicidade e interações com o tecido. A lisura da superfície metálica é importante por que a torna menos trombogênica. A maioria das superfícies metálicas implantadas em humanos tem uma carga de superfície eletropositiva que atrai o fibrinogênio, formando assim, uma fina camada após alguns segundos do implante do stent. Esta camada de fibrinogênio diminui a tensão superficial da superfície do metal, conferindo a este menos trombogenicidade. Nas primeiras semanas após o implante do stent, o trombo que circunda as hastes dos stents é gradualmente substituído pela hiperplasia intimal e, o número de novos vasos formados em cada área está relacionado com o número de células miointimais (PALMAZ, 1993). PISCO (1993) estudou as reações que ocorrem após implante de stent em aorta de cães e demonstrou que esta neovascularização tem origem da vasa vasorum. Em cães, a formação neointimal atinge seu limite após dois meses do implante do stent e, conseqüentemente, começa a tornar-se mais fina, com poucas células e, aos poucos, vai sendo substituída por colágeno.

Imediatamente após a exposição de um dispositivo metálico à corrente sanguínea, uma série de eventos modifica a sua superfície com intenção de prepará-la

para a colonização do tecido. A modificação da morfologia da parede arterial após o implante do stent apresenta uma seqüência bem definida de eventos. Inicialmente, ocorre a formação de trombos e o aparecimento de uma inflamação aguda logo após o implante e, posteriormente, o crescimento de neointima. O aumento da inflamação, após o implante de stent, está associado à injúria da camada média e à penetração da malha do stent no núcleo lipídico (PALMAZ, 1993).

A porção metálica do stent também influencia na cicatrização. O esqueleto metálico é um importante determinador na formação do trombo e, por sua vez, o trombo serve de nicho para a formação de neointima. Poucos segundos após o implante, ocorre depósito de fibrina e outras proteínas plasmáticas na estrutura metálica exposta ao fluxo sanguíneo (PALMAZ, 1993). Nos primeiros quinze minutos de exposição do stent à corrente circulatória, verificam-se aderência de plaquetas e leucócitos à superfície do stent que está recoberto por fibrina, contribuindo para a formação do trombo inicial. O grau de trombo que se forma na malha do stent, nesta fase, exercerá grande influência no crescimento neointimal subsequente (SCHATZ, 1989). PALMAZ (1988) demonstrou que, em 24 horas, já existe uma completa camada de fibrina na superfície do stent, com linhas orientadas na direção do fluxo sanguíneo. Os autores sugerem que as linhas de fibrina podem servir como uma estrutura para o desenvolvimento de células endoteliais.

No momento do implante das endopróteses ocorre certo grau de lesão da parede vascular. Mesmo os stents auto-expansíveis necessitam de dilatação com balão para se acomodarem melhor à parede arterial. Os stents expansíveis por balão, por si só, necessitam de um cateter balão para se expandirem no sistema arterial, causando, às vezes, dano à parede arterial no momento do implante, com ruptura da camada média e da lâmina elástica interna. Quando ocorre lesão da camada média e a desproporção relativa do diâmetro do stent em relação à luz arterial é relatada uma



maior resposta da hiperplasia intimal (DOLMATCH, 2000). PALMAZ (1993) sugere que a expansão adequada do stent (geralmente de um diâmetro de 10 a 15 % maior que o do vaso) é necessária para garantir a incrustação das hastes do stent na parede do vaso, limitando a formação de trombo. Nestas condições as células endoteliais podem se desenvolver a partir de tecidos que se projetam entre as hastes dos stents, desde que o endotélio não tenha sido totalmente desnudado. A relação entre o grau de lesão na parede do vaso causado pelo stent e o grau de hiperplasia intimal tem sido demonstrada experimentalmente. SCHWARTZ (1992) demonstrou uma correlação muito próxima entre o grau de penetração das hastes dos stents nas camadas da parede do vaso e a proliferação intimal. FARB (1999), confirmou a relação entre o grau de lesão e hiperplasia intimal em vasos retirados de humanos, após a cirurgia e após autópsia. SULLIVAN (2002) demonstrou que a permanência de uma lâmina elástica interna intacta é um importante fator na prevenção da hiperplasia intimal e reestenose, após implante de stent em artérias ilíacas. Embora o infiltrado inflamatório tenha sido observado em vasos com ruptura da média e com as hastes dos stents no núcleo lipídico (FARB, 2002), alguns investigadores chamam a atenção para a contaminação por partículas do stent que produzem inflamação. WHELAN (1997) identificou goma e fibras em tecidos em volta dos stents e BAYER-GENIS (2001) demonstraram que a pressão de enxágüe utilizada para remover as partículas de contaminação em stents resultou em diminuição da hiperplasia. A liberação lenta de íons metais nos tecidos que circundam o local de implante do stent pode ser a razão da resposta inflamatória e hiperplásica local. Os produtos corrosivos das ligas de metal, comumente utilizados na fabricação de stents, (aço inoxidável 316L e o nitinol) demonstram biotoxicidade (SHIH, 2000; PALMAZ, 2001). O nitinol demonstrou ter um efeito inflamatório por causar um aumento da secreção de interleucina-1  $\beta$  pelos monócitos (WATAHA, 1999). A diminuição da concentração de níquel foi observada em áreas com falência estrutural devido à corrosão em endopróteses aórticas de nitinol. A falha estrutural dos stents maiores, sujeitos a uma força muito maior quando comparados a stents

menores, pode estar relacionada à heterogeneidade focal e a inclusão de material, gerando corrosão galvânica e eventual fratura (HEINTZ, 2001).

O diâmetro das hastes dos stents também tem influência, pois stents com hastes maiores servem como obstáculo à migração celular. A densidade da malha do stent tem influência na resposta da hiperplasia intimal. Stents com poucas hastes colocadas longe uma das outras produzem mais hiperplasia intimal do que mais hastes em volta da circunferência, mesmo sendo uniformemente distribuídos. Isso tem relação com o alinhamento da parede do vaso com poucas hastes do stent que produz um lúmen poligonal ao invés de um lúmen circunferencial (GARASIC, 2000).

O sucesso de um implante de stent depende de uma mínima trombose e de uma rápida endotelização. Após uma angioplastia ocorre dissecação da íntima e da média com exposição dos elementos subintimais aos elementos da corrente sanguínea, trazendo como resultado a deposição de plaquetas e formação de trombo, a proliferação de fibroblastos e a hiperplasia intimal. No local da dissecação o fluxo sanguíneo torna-se turbulento, devido à irregularidade da camada íntima, contribuindo para a deposição excessiva de plaquetas e fibrina (FAXON, 1984). RICHTER (1999) mostrou a necessidade do uso de heparina para prevenção da trombose do stent e, também, que vasos de baixo fluxo estão mais sujeitos a uma taxa de reestenose maior.

ROBINSON (1989) estudou a resposta celular de stents implantados em aorta e artérias ilíacas de coelhos. A microscopia óptica e a eletrônica revelaram que as células endoteliais e pseudo-endoteliais aderem à prótese logo no primeiro dia após o implante do stent. Aparentemente, ocorre uma trombose localizada, levando a uma organização do trombo. As células musculares lisas e as células inflamatórias migram para o local do implante, levando à incorporação do stent na parede arterial. Uma

camada endotelial confluyente se regenera dentro de duas a quatro semanas. O grau de hiperplasia tem sido relacionado com a evidência histológica de inflamação no vaso submetido a implante de stent. Infiltrados de neutrófilos são prevalentes poucos dias após o implante de stent (FARB, 1999) e macrófagos e linfócitos predominam em seis meses (FARB, 2002). Porém, tem sido observada a formação de granuloma próximo à haste do stent independente do grau de lesão (KORNOWSKI, 1998).

DOLMATCH (2000) demonstrou que após vários dias as células miointimais primitivas e as células inflamatórias (macrófagos e leucócitos polimorfonucleares) são vistas dentro do trombo. O processo continua com a deposição de matriz do colágeno, com a proliferação de células miointimais e o desenvolvimento de uma camada endotelial. Embora esta resposta esteja relacionada à exposição no momento do implante da endoprótese, não há razão para acreditar que esse processo seja diferente em outras endopróteses que são projetadas com a estrutura metálica por fora da malha de tecido e não expostas ao fluxo sanguíneo.

A taxa de endotelização é influenciada mais pela migração do que pela proliferação celular. Um importante fator que afeta o grau de endotelização é a medida da velocidade de fluxo laminar. Em condições de fluxo normal as células migram na direção do fluxo em direção única e mais rapidamente. Esta observação demonstra o fato de que na parede de artérias coronárias, após o implante de stent, com mínima lesão ao endotélio, a endotelização ocorre em poucos dias. Por outro lado, stents implantados em vasos ocluídos ou após largas lesões endoteliais, como em casos de uso de cateteres de endarterectomia ou revascularização a laser, o tempo de endotelização é estendido de muitas semanas a meses (PALMAZ, 1988; HAMURO, 2001). A migração celular, a jusante, ocorre em um padrão de “zigzag” e não em linha reta. Este movimento aumenta a probabilidade destas células se encontrarem com outras células que estão migrando e a sua colisão diminui a migração por inibição por

contato. Se uma célula migratória encontra um traço linear na superfície, esta assume este padrão de migração (HAMURO, 2001). PALMAZ (1988) demonstrou em carótidas de suínos que a criação de ranhuras paralelas na superfície interna do stent resulta em taxas de endotelização aceleradas uma semana após o implante.

A necessidade de diminuir a ocorrência de reestenose após o implante de um stent tem levado ao estudo de novos materiais para sua construção ou substâncias para seu revestimento que reduzam seu potencial trombogênico e evitem a hiperplasia intimal. Basicamente, existem dois tipos de projetos visando minimizar a hiperplasia intimal: estudo sobre a estrutura de configuração do stent e sobre a associação de outras modalidades terapêuticas ao stent (JUNIOR, 2002; NELKEN, 2004).

A fixação do stent ao vaso se estabelece basicamente a partir do equilíbrio entre a resistência da parede e a força radial do stent. O contato íntimo destes metais com a parede vascular estabelece um caráter reacional local, que ao longo do tempo irá interferir na sua permeabilidade. Para diminuir este tipo de alteração, foram desenvolvidas coberturas com soluções e películas (stents revestidos por carbono ou carbeto de silício - um material inerte de baixa trombogenicidade que reduz a agregação plaquetária por inibir a migração dos elétrons para os metais). Estes stents possuem a vantagem de não inibir o crescimento do endotélio e de diminuir a reação inflamatória (PALMAZ, 1997; PALMAZ, 2003). As vantagens e as limitações do material polimérico devem ser avaliadas por meio de suas propriedades biomecânicas e biológicas para a aplicação vascular. Um material ideal para implante deve ser resistente à trombose, estável mecanicamente e também facilmente incorporado pelo tecido, mas não incitar a resposta proliferativa, inflamatória ou degenerativa (PALMAZ, 1997). Por exemplo, a resistência à trombose e a reação tecidual são mais importantes em vasos de menor calibre, e a durabilidade é importante nos vasos de maior calibre (RICHTER, 1999).

Os stents recobertos com politetrafluoretileno (PTFE), polietileno tereftalato (PET), poliéster (Dacron), poliuretano, ligas de carbono, com drogas ou polímeros contendo drogas antitrombóticas e antiproliferativas, também, têm sido investigados como alternativa no combate à hiperplasia intimal (PALMAZ, 1998; NELKEN, 2004).

O enxerto de PTFE é um material inerte com poros muito pequenos que limita o crescimento interno do tecido. Os stents revestidos de PTFE são indicados principalmente em estenoses longas, porém sua utilização é limitada em reestenoses refratárias e, também, devem ser utilizados com cautela quando existem importantes vasos colaterais que, se forem cobertos, pode ocorrer a piora da isquemia do membro (LAMMER, 2001). Os resultados preliminares demonstram uma perviedade primária de 86% em nove meses no tratamento de lesões longas da artéria femoral superficial (LAMMER, 2000; JAHNKE, 2003; WIESINGER, 2005). Stents revestidos com PTFE foram testados em suínos, objetivando avaliar a capacidade de cicatrização, comparados a stents não revestidos. O resultado da perviedade foi igual nos dois grupos, porém o PTFE não impediu o espessamento progressivo neointimal. Alterações estruturais do PTFE, quando dilatado, podem estar relacionadas ao aumento da resposta inflamatória (GRUDTNER, 2004). OMBRELLARO (1997) relata que, ao comparar-se o stent auto-expansível ao expansível por balão revestido com PTFE, não existe diferença na taxa de endotelização e hiperplasia intimal. CEJNA (2001), em estudo realizado em ovelhas, relata que a endotelização de stents revestidos com PTFE é retardada em comparação com outros polímeros.

O poliéster é manufaturado como arranjo de fibras (Dacron®). Por esta razão, esses materiais se apresentam como formas têxteis. As duas formas de fabricação são o woven e o knitted. O tipo knitted é mais flexível e maleável, particularmente quando manufaturados com pontes transversas. O tipo woven tem pouca elasticidade e tende a enrugar e dobrar facilmente, tendo dificuldade para assumir o contorno

sinuoso e tubular dos vasos sanguíneos. A resposta biológica aos enxertos tipo Dacron® é caracterizada por uma cápsula fibrosa que reveste a superfície externa da prótese e na microscopia observa-se abundante matriz extracelular que infiltra a malha do tecido. A superfície luminal é composta de material fibrinóide compactado, com ausência de células endoteliais, exceto nas áreas vizinhas da anastomose. O enxerto de Dacron® quando é implantado em vasos de menor calibre, induz a uma intensa reação celular composta de células tipo “corpo estranho” e camadas concêntricas de linfócitos e eosinófilos. Essa reação tecidual restringe a luz vascular, levando à trombose (PASQUINELLI, 1990; MARTY, 2002).

ANGELINI (2002) encontrou diminuição da hiperplasia intimal em enxertos de safena de porcos com hipercolesterolemia após a colocação de stents com revestimento de poliéster. CASTAÑEDA (2000) não encontrou diferença na espessura da íntima e da média ao comparar stents não recobertos com os de revestimento de poliéster. MARTY (2002) avaliou a fixação de dois tipos de stents, um com revestimento de poliéster e o outro com poliuretano e concluiu que as próteses com poliuretano tiveram uma fixação mais extensa com tecido de granulação. AVINO (2000) avaliou a colocação de stents de nitinol revestidos com Dacron® em aorta de cães e concluiu que, apesar dos stents recobertos induzirem uma hiperplasia intimal maior, a área luminal não foi alterada. Este autor não encontrou diferença na perviedade, na formação de trombos, na hemodinâmica de fluxo e na endotelização luminal. Resultado semelhante foi relatado por DUTRA (2001). Os enxertos de polietileno induzem a um aumento de trombogenicidade, quando comparados aos de PTFE, por induzirem um aumento da atividade pró-coagulante dos macrófagos (MARTY, 2002).

Em relação à incorporação dos stents pela parede vascular, a mais importante diferença entre os stents revestidos com materiais poliméricos e os stents não

revestidos é que os stents não revestidos têm uma tendência maior à endotelização, talvez relacionada à superfície favorável dos metais. Essas propriedades provavelmente determinam uma ligação estável com as proteínas, quando exposto ao fluxo sanguíneo, seguindo-se a fixação das células na malha metálica dos stents. Os stents revestidos são menos biocompatíveis. (PASQUINELLI, 1990; PALMAZ, 1993). CEJNA (2001), comparou stents não revestidos com stents com diversos tipos de revestimentos em artérias de ovelhas e concluiu que os stents não revestidos apresentam melhor endotelização e menos hiperplasia intimal.

O silicone também foi estudado devido a sua propriedade elástica e durabilidade. FONTAINE (2001) comparou os efeitos biológicos de stents revestidos com silicone aos stents não revestidos em cães, e concluiu que a membrana permaneceu inerte após seis semanas, sem ocorrência de trombose e mínima hiperplasia intimal. GALLONI (2003) realizou experimento com stent revestido de liga de carbono que mostrou boa compatibilidade tecidual e hematológica e nenhum caso de trombose foi registrado.

Além do revestimento com enxerto, substâncias podem ser impregnadas com o objetivo de reduzir a reação do enxerto e obter a endotelização com maior rapidez. A compreensão da fisiopatologia da reestenose dos stents fez reacender o interesse pelo uso de agentes anti-proliferativos. Todavia, alguns fatores são necessários para a utilização clínica de stents com drogas anti-proliferativas como, por exemplo, uma matriz biologicamente inerte, fisiologicamente sólida e deformável. A matriz deve ser rígida o bastante para resistir às demandas fisiológicas da organização, sem sofrer rachaduras ou delaminações e, também, deve sobreviver ao processo de esterilização sem alterar as suas propriedades. Outro fator é o tempo correto de liberação da droga, limitado a seis semanas ou menos. (NELKEN, 2004).

Uma fixação segura da droga ao stent é muito importante e os mecanismos (com muitas variações e combinações) para tal são: (1) a fixação direta; (2) a fixação por meio de poros revestidos; ou (3) por meio de revestimentos dissolvíveis, nos quais a droga é misturada, sendo liberada pela dissolução do revestimento ou por quebra enzimática das substâncias que se ligam às drogas. Também tem importância uma geometria favorável para a liberação da droga, sendo que, geralmente, quanto maior o tamanho da célula mais heterogêneo é o local de liberação (NELKEN, 2004).

Recentemente, a divulgação dos resultados preliminares do uso de stents recobertos com a rapamicina – Sirolimus - tem trazido grande entusiasmo, pela perspectiva de redução expressiva na incidência de reestenose. A rapamicina foi originalmente desenvolvida como droga antifúngica, mas a sua utilidade foi questionada devido aos efeitos imunossupressores. Em 1999, ela foi aprovada pelo FDA para utilização como droga em pacientes com rejeição ao transplante renal. Em estudos sobre transplantes cardíacos foi descoberta uma inibição da proliferação miointimal, tornando a rapamicina o alvo principal de trabalhos sobre stents revestidos com drogas antiproliferativas (GOGGINS, 1996). A rapamicina age inibindo a fase G1 a S do ciclo celular através da proteína de ligação fk506, ligando-se assim a uma molécula chamada mTOR.

Apesar de os trabalhos iniciais serem bastante animadores, o estudo “SIRIUS”, ao recrutar pacientes que mimetizassem a realidade dos consultórios dos cardiologistas, não demonstrou resultados muito satisfatórios ao avaliar o implante de stents revestidos com rapamicina em artérias coronárias de pacientes com dados clínicos mais complexos, incluindo os diabéticos. Após nove meses a taxa de falência foi de 10% comparada a 19% do grupo controle. A taxa de reestenose foi de 2% comparada a 9% do grupo controle, e mais complicações foram encontradas nos pacientes diabéticos (MOSES, 2003). Um interesse especial esteve relacionado a um



potencial aumentado de trombose tardia e, apesar da diminuição da hiperplasia intimal, ocorreu a hipótese de retardo no processo de endotelização. Os estudos SIROCCO I e II avaliaram os resultados do implante de stents auto-expansíveis com rapamicina em pacientes portadores de isquemia crônica de membro inferior, devido à lesão da artéria femoral superficial. Os resultados não demonstraram diferença estatística entre os grupos, sendo que neste tipo de artéria, a principal causa de falência dos stents estaria relacionada a fatores mecânicos com conseqüente fratura dos stents em longo prazo (DUDA, 2005 e 2006). A fratura que ocorre em stents de nitinol pode estar relacionada à cobertura e ao polimento do stent com óxidos amorfos (SHIH, 2000; RIEPE, 2002).

A análise de vários estudos em diferentes leitos vasculares tem uma tendência a mostrar que artérias de pequeno calibre estão mais sujeitas a hiperplasia intimal e as reações celulares da interação stent/parede do vaso e as artérias de maior calibre a fatores estruturais e mecânicos tanto do stent como da parede do vaso envolvido (KRUEGER, 2006). A própria estrutura dos stents tem importância na prevenção da oclusão ou reestenose e esta é baseada em diversos fatores, como: o mecanismo de liberação, o material de fabricação, a geometria dos stents, a presença de polímeros e/ou outras substâncias capazes de induzir inflamação local e outros tidos como fatores mecânicos (WOLOSKER, 2003; MEWISSEN, 2004; SCHEINERT, 2005). As diferenças entre modelos de stents são confirmadas por diversos autores em estudos com animais experimentais (ROGERS, 1995; GARASIC, 2000) e em séries clínicas (HENRY, 2000; SCHEINERT, 2005). Os resultados favoráveis crescem na medida em que o entendimento das reações envolvidas na interação do stent com a parede dos vasos sanguíneos aumenta e, também, devido ao constante avanço tecnológico dos materiais utilizados (MEWISSEN, 2004; SABETI, 2007; SCHILLINGER, 2007).

Outro medicamento também analisado é o Paclitaxel, um agente antiproliferativo, citostático e quimioterápico que previne a migração de células musculares lisas, funciona como agente estabilizador microtubular e estimula a apoptose ou a morte celular programada. O Paclitaxel também possui efeitos anti-inflamatórios (PARK, 2003). As drogas que inibem as reações, antes da fase S, têm tendência à inibição do crescimento celular e aquelas que inibem as porções tardias do ciclo tendem a ser mais tóxicas. O Sirolimus e o Everolimus agem interrompendo a transição da fase G1 para a fase S do ciclo celular. Ao comparar-se com o Paclitaxel, este age mais tardiamente no estágio de mitose inibindo a função microtubular (NELKEN, 2004).

A administração sistêmica de probucol (antioxidante) e de cilostazol (inibidor plaquetário, vasodilatador e inibidor da proliferação de células musculares lisas) demonstra efeito benéfico na redução da reestenose de stents coronários em humanos (SEKIYA, 1998). Outras drogas administradas de forma sistêmica, como o trapidil (inibidor do PGDF), foram ineficazes na prevenção da reestenose dos stents. FONTAINE (2001) demonstrou em cães que a absorção e a eluição do abciximab da superfície de um stent recoberto é viável e que a liberação local desta droga reduziu o espessamento miointimal. Contudo, ANSEL (2004) em estudo denominado BLASTER (Bilateral Lower Arterial Stenting Employing Reopro), não encontrou diferença na utilização do abciximab com os resultados de perviedade de stents auto-expansíveis de nitinol em artérias femorais.

Os stents podem ser revestidos com substâncias que criam uma superfície não detectável pelo organismo e assim não causam reações. Dentre estas substâncias, temos: o colágeno, a fibrina, a heparina, a fosforilcolina e várias moléculas bioativas. CLOFT (2000) obteve resultados favoráveis observando rápida endotelização e baixa

estenose reativa, após o implante de stents revestidos com colágeno bovino tipo I em aorta de coelhos.

A heparina é um proteoglicano que inibe a proliferação de células musculares lisas *in vitro*. O efeito inibidor é mediado em parte pelas interações com receptores celulares, fatores de crescimento, moléculas de adesão e inibidores das proteinases. Devido às propriedades antiproliferativas e anticoagulantes, muitas pesquisas foram realizadas para determinar qual a melhor estratégia para a administração da heparina, após a colocação do stent, na tentativa de se evitar a hiperplasia intimal. LIN (2003) demonstrou em primatas que stents recobertos com heparina por meio de ligação covalente induzem uma hiperplasia intimal menor em relação ao grupo controle. NAKAYAMA (2003) estudou stents revestidos com heparina e FK506. A heparina revestiu a face interna, ou seja, o lúmen do stent em contato com a corrente sanguínea, devido às suas propriedades anticoagulantes e o FK506 (tacrolimus) revestiu a face externa em contato com a parede do vaso, devido à sua ação imunossupressora. A conclusão foi que este tipo de revestimento foi efetivo na prevenção da hiperplasia intimal.

Vários trabalhos têm demonstrado que a expressão de moléculas de adesão está diminuída em pacientes com stents revestidos com fosforilcolina e heparina. Em estudos com stents revestidos com fibrina foi demonstrado, além da diminuição da trombose, um aumento da endotelização comparando com stents não revestidos. Outro tipo de revestimento estudado foi o com anticorpos para CD34, um marcador superficial do endotélio, que promove a fixação endotelial e o crescimento excessivo (KUTRYK, 2003).

As metaloproteases são moléculas da família das proteases dependentes de zinco e cálcio que degradam o colágeno e outras proteínas da matriz como a elastina

e os proteoglicanos. A lesão vascular resulta em padrões temporais de aumento da atividade das metaloproteinases. Essas enzimas, além de estarem relacionadas ao remodelamento vascular e à hiperplasia intimal, pelo seu efeito sobre a proliferação e a migração celular, também, têm efeitos na inflamação e na angiogênese. Assim, hipoteticamente a inibição destas enzimas resultaria em redução da hiperplasia intimal. Entretanto, VAN BEUSEKOM (2003) ao estudar os efeitos do “batimastat”, um inibidor inespecífico das metaloproteinases e, também, uma droga antineoplásica e com propriedades antiangiogênicas, não encontrou influência significativa na reação neointimal, após a colocação de stent em artérias femorais de porcos, apesar de existirem trabalhos em animais que comprovaram seus efeitos de diminuição do remodelamento da parede do vaso após ATP.

A radioterapia intra-arterial é outra modalidade terapêutica que tem sido amplamente estudada, objetivando a supressão de genes envolvidos no controle do ciclo de proliferação celular. Ela age através do bombardeio do núcleo celular com radiação ionizante, e produz a quebra das duas hélices que compõem o DNA. Dessa maneira, bloqueia sua duplicação, que é condição fundamental para a proliferação celular. Com as doses de radiação recomendadas, as células lisas permanecem viáveis, porém impossibilitadas de replicar. SHIMOTAKAHARA (1994) e MAYBERG utilizando radiação-gama externa, demonstraram em ratos a redução da hiperplasia intimal após a lesão das artérias carótidas. WIEDERMAN (1994), MAZUR (1994) e WAKSMAN (1995) também demonstraram experimentalmente a eficácia da radiação-gama utilizando Iridio<sup>192</sup> para inibir a proliferação de uma neointima após a lesão em coronárias de porcos, provocada por uma hiperinsuflação do balão de angioplastia. O único estudo em humanos, publicado até o momento, utiliza Iridio<sup>192</sup> para inibir a proliferação da neointima em artérias periféricas. Em seres humanos, os resultados dos primeiros estudos clínicos divulgados são animadores. Entretanto, as trombooses tardias e as reestenoses de bordas ainda limitam sua aplicação. O estudo “Vienna-5

trial” que avaliou a efetividade da braquiterapia na prevenção da reestenose após implante de stent em artérias femorais de 88 pacientes, concluiu, depois de 12 meses, não ter sido efetiva esta terapia para a manutenção da perviedade em seis meses (WOLFRAM, 2005). Outro estudo denominado “Paris trial” também não demonstrou benefício do uso da braquiterapia para o tratamento da reestenose (WAKSMAN, 2001). Algumas questões ainda estão sem resposta sobre a utilização da radioterapia em cirurgia endovascular, como por exemplo: qual a dose efetiva recomendada? A radiação deve ser administrada antes ou após a angioplastia? Qual a radiação deve ser utilizada – beta, gama? Qual modo de liberação de radiação é o mais efetivo – cateter, balão ou stent? A radiação realmente tem efeito benéfico na prevenção da reestenose tardia? (WOLFRAM, 2005)

## **2.6 MODELO EXPERIMENTAL**

A utilização de animais como objeto de experimentação é uma prática amplamente empregada com o intuito de se desenvolverem métodos e técnicas que possam gerar instrumentos de “cura” ou alívio para os males que acometem o homem e outros animais (WOLF, 1999; MARIANO, 2003).

Dentre as várias espécies utilizadas em experimentação biomédica, destaca-se o porco (*Sus scropha*). Como citado por SWINDLE (1983), o uso do suíno em pesquisas científicas é uma prática antiga. Em 1540, VERSALIUS, em sua famosa obra *De Humani Corporis Fabrica*, em que tentava descrever os mecanismos que regem o corpo humano, desenhou um porco sendo utilizado em experimentação de maneira como o médico grego GALENO o fizera, há mais de mil anos antes. Segundo o autor essa deve ser a mais antiga ilustração do uso desses animais nas diferentes áreas da ciência (MARIANO, 2003).

Em 1628, WILLIAN HARVEY, ao descrever os mecanismos que regem a circulação sanguínea, também utilizou o suíno como animal de experimentação para melhor compreender a fisiologia humana. Segundo SWINDLE (1992) esses estudos embasaram as normas da medicina experimental por CLAUDE BERNARD 250 anos após, normas essas que regem os procedimentos experimentais em biologia e medicina de nossos dias.

Estão hoje amplamente estabelecidas na literatura as semelhanças entre a anatomia, fisiologia e fisiopatologia dos suínos e as do homem (BUSTARD, 1965). Essas semelhanças são muito mais distantes quando a fisiologia do homem é comparada com aquela do cão, rato, camundongo e outras espécies utilizadas em experimentação. Frente a essas evidências, bem como àquelas que mostram a utilização de suínos de longa data na experimentação animal, o uso desta espécie como modelo experimental pela comunidade científica foi acanhado até os anos 70 (MARIANO, 2003).

A restrição ao uso de suínos se prendeu à elevada capacidade de conversão alimentar com conseqüente ganho de peso desses animais. Nos dias atuais, em que o suíno foi transformado em verdadeira “fábrica” de conversão alimentar e conseqüente crescimento acelerado, após seis meses de vida, pode atingir o peso de 150 quilos. Essas características fisiológicas da espécie limitam o planejamento de experimentos em longo prazo. Por essa razão, suínos com essas características são utilizados em experimentos agudos ou de curta duração. Ainda, a utilização de animais muito jovens (leitões desmamados) induz a resultados não comparáveis com a fisiologia de humanos adultos (MARIANO, 2003).

Segundo BUSTARD e MCCLELLAN (1965) o suíno, inclusive o miniporco, apresenta semelhanças com o homem no que diz respeito a aspectos ligados a

odontologia, morfologia e fisiologia renal, acuidade visual, estrutura do olho, fisiologia e morfologia da pele, fisiologia e anatomia cardiovascular, fisiologia e anatomia digestiva e imunologia.

TUMBLESON (1986) complementa que o suíno é um modelo útil para estudos em pesquisas biomédicas, pois apresenta similaridade de estrutura e funções com o homem, incluindo tamanho padrão de alimentação, fisiologia digestiva, hábitos dietéticos, estrutura e funções do rim, estrutura vascular do pulmão, distribuição da artéria coronária, propensão para obesidade, taxa respiratória e comportamento social. Sendo o suíno onívoro, é considerado um modelo adaptável para avaliar as exposições crônicas e agudas ao álcool, cafeína, tabaco, aditivos alimentares e poluentes do ambiente. Esse animal tem sido usado com sucesso como modelo para avaliar o alcoolismo, diabetes, absorção, nutrição parenteral total, transplante de órgãos, arteriosclerose, hipertensão, hemorragia, melanoma, gengivite, nefropatia obstrutiva e refluxo, ostecondrose e choque séptico (MARIANO, 2003).

O modelo suíno, em relação ao humano, tem como vantagens: o fácil manejo e a utilização de cateteres que são usados em seres humanos, não necessitando de materiais específicos; e por haver semelhança quanto ao metabolismo lipídico, o perfil lipoprotéico e a agregação plaquetária. Além disso, após a lesão endotelial há formação de trombo, deposição de fibrina e formação de neoíntima com características similares à dos seres humanos. Observa-se desenvolvimento completo da hiperplasia intimal em 28 dias. Esta nova íntima formada é semelhante à encontrada em seres humanos em termos de tamanho celular, densidade celular e aparência histopatológica. Dentre as desvantagens, cita-se: o rápido ganho de peso, o gasto com a manutenção e a susceptibilidade à fibrilação ventricular quando da realização de oclusão coronária durante um procedimento de angioplastia (WOLF, 1997; NARAYANASWAMY, 2000).

Os cães são reconhecidamente resistentes à formação da hiperplasia intimal após lesão por balão. A parede vascular dos cães, assim como seu metabolismo e sistema de coagulação é pouco reativa às dietas hipercolesterolêmicas e às lesões vasculares, pois apresenta alta atividade fibrinolítica (NARAYANASWAMY, 2000).

### **2.6.1 ANATOMIA DA AORTA E DA PAREDE ABDOMINAL DO SUÍNO**

A anatomia dos suínos difere um pouco da anatomia humana. A medida da extensão da aorta abdominal, desde a artéria renal esquerda é de 7,4 cm em média e seu diâmetro médio é de 0,8 centímetros. A aorta abdominal surge em qualquer lado, ligeiramente cranial à artéria renal correspondente, aproximadamente à altura da terceira vértebra lombar. Esta passa para a parede abdominal lateral, situando-se nos músculos sub-lombares. Na borda lateral do músculo psoas maior esta artéria se divide em um ramo cranial e outro caudal. Após seguir a borda caudal da última costela, o ramo cranial supre o músculo transverso do abdômen e, às vezes, o músculo oblíquo externo do abdômen. O ramo caudal também supre os músculos citados. Seus ramos de maior importância para o experimento são: as artérias renais, as lombares, a mesentérica caudal, as ilíacas externas e a artéria sacral mediana.

As artérias lombares são, freqüentemente, em seis pares. Os primeiros cinco pares geralmente surgem da parede dorsal da aorta abdominal, enquanto o sexto par nasce da artéria sacral mediana. As artérias renais surgem da superfície lateral da aorta abdominal. A artéria renal direita origina-se em posição mais elevada do que a esquerda. A artéria renal direita passa anteriormente à veia cava caudal. As artérias lombares, direita e esquerda, dentro dos primeiros quatro segmentos, surgem separadamente, mas estas freqüentemente surgem por um tronco comum nos últimos dois segmentos lombares. Ao nível do corpo vertebral correspondente, fornece um ou dois pequenos ramos que irrigam os músculos sublombares. Próximo ao forâmen



intervertebral, libera o ramo espinhal para a medula espinhal e suas meninges. A artéria mesentérica caudal nasce da aorta ventralmente próximo da sua terminação, na altura da quinta e sexta vértebras lombares. Após pequeno percurso, em que emite pequenos ramos, irriga o cólon descendente. As artérias ilíacas externas surgem da aorta ventralmente à última vértebra lombar, cranialmente ao promontório sacral. Transcorre posteriormente e lateral ao músculo psoas-ilíaco até a origem do músculo sartório, onde deixa a cavidade abdominal pelo anel femoral. A artéria sacral mediana é a continuação da aorta abdominal na região sacro-caudal, portanto é tão calibrosa quanto às artérias ilíacas externas, constituindo com essas uma trifurcação. Percorre a região sacro-caudal e emite pares de ramos sacrais espinhais, que irrigam a medula e suas meninges (GHOSHAL, 1986).

A túnica abdominal suína é pouco desenvolvida. O músculo oblíquo externo do abdômen possui uma extensa porção muscular e uma aponeurose correspondente estreita. Na sua porção inferior, no abdômen, reflete-se para formar o ligamento inguinal (SISSON, 1986).

O oblíquo interno do abdômen é um pequeno músculo fusiforme que cruza o canal inguinal obliquamente e está inserido na superfície abdominal do ligamento inguinal, parecendo um segmento destacado do músculo oblíquo externo do abdômen (SISSON, 1986).

O músculo reto do abdômen é extenso e espesso. Este tem de sete a dez fascículos. Seu tendão de inserção funde-se essencialmente com o tendão comum do músculo grácil e não emite uma faixa acessória para a cabeça do fêmur. A parte muscular do músculo transverso do abdômen é bem desenvolvida. Esta parte une-se com o músculo transverso do tórax (SISSON, 1986).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMBROSI, P; ROLLAND, PH; BODARD, H; et al. Effects of folate supplementation in hyperhomocysteinemic pigs. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 34, p. 274-9, 1999.

ANDREOTTI, F; BURZOTTA, F; MAZZA, A; et al. Homocysteine and arterial occlusive disease: a concise review. **Cardiological**, vol. 44, n.4, p. 341-346, 1999.

ANDREWS, RT; VENBRUX, AC; MAGEE, CA; BOVA, D. Placement of a flexible endovascular stent across the femoral joint: an in vivo study in the swine model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol.10, n.9, p. 1219-1228, 1999.

ANGELINI, GD; LLOYD, C; BUSH, R; JOHNSON, J; NEWBY, AC. An external, oversized, porous polyester stent reduces vein graft neointima formation, cholesterol concentration, and vascular cell adhesion molecule 1 expression in cholesterol-fed pigs. **The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery**, vol. 124, n. 5, p. 950-56, 2002.

ANSEL, GM; SILVER, MJ; BOTTI JR., CF; et al. Functional and clinical outcomes of nitinol stenting with and without abciximab for complex superficial femoral artery disease: A randomized trial. **Catheterization and Cardiovascular Interventions**, vol. 67, n. 2, p. 288 – 297, 2006.

AUN, R; PUECH-LEÃO, P. Temas em cirurgia endovascular. In: AUN, R; PUECH-LEÃO, P. **Fundamentos da Cirurgia Vascular e Angiologia – volume 2**. São Paulo: Lemos Editorial, 2003. p. 30-41.

AVINO, A; JOHNSON, B; BANDYK, D; et al. Does prosthetic covering of nitinol stents alter healing characteristics or hemodynamics? **J. Endovasc. Ther.**, vol. 7, p. 469-478, 2000.

BARRAS, CDJ; MYERS, KA. Nitinol – its use in vascular surgery and other applications. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 19, p. 564-569, 2000.

BAYES-GENIS, A; KANTOR, B; KEELAN, PC; et al. Reestenosis and hyperplasia: animal models. **Curr. Interv. Cardiol. Rep.**, vol. 2, p. 303-8, 2000.

BEATTIE, DK; SIAN, M; GREENHALGH, R; DAVIES, AH. Influence of systemic factors on pre-existing intimal hyperplasia and their effect on the outcome of infrainguinal arterial reconstruction with vein. **Br. J. Surg.**, vol. 86, n. 11, p.1441-1448, 1999.

BEHRENDT, D; GANZ, P. Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. **Am. J. Cardiol.**, vol. 90, p. 40L-48L, 2002.

BERGER, PB; HERRMANN, RR; DUMESIC, DA. The effect of estrogen replacement therapy on total plasma homocysteine in healthy postmenopausal woman. **Mayo Clin. Proc.**, vol. 75, n. 1, p.188-23, 2000.

BLACK, JH; LAMURAGLIA, GM; KWOLEK, CJ; et al. Contemporary results of angioplasty-based infrainguinal percutaneous interventions. **J. Vasc. Surg.**, vol. 42, p. 932-9, 2005.

BLOCK, PC; MYLER, RX; STERTZER, S; FALLON, IT. Morphology after transluminal angioplasty in human beings. **N. Engl. J. Med.**, vol. 305, p. 382-385, 1981.

BOERS, GH. Mild hyperhomocysteinemia is an independent risk factor of arterial vascular disease. **Semin. Thromb. Hemost.**, vol. 26, n. 3, p. 291-5, 2000.

BOSCH, JL; HUNINK, MG. Meta-analysis of the results of percutaneous transluminal angioplasty and stent placement for aortoiliac occlusive disease. **Radiology**, vol. 204, p. 87-96, 1997.

BOSCH, JL; TETTERO, E; MALI, WP; et al. Iliac arterial occlusive disease: cost-effectiveness analysis of stent placement versus percutaneous transluminal angioplasty. Dutch Iliac Stent Trial Study. **Radiology**, vol. 208, p.641-648, 1998.

BOUSHEY, CJ; BERESFORD, SAA; OMENN, GS; MOTULSKY, AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. **JAMA**, vol. 274, n. 13, p. 1049-57, 1995.

BRATTSTROM, LE. Vitamins as homocysteinemia - lowering agents. **J. Nutr.**, vol.126, p.1265-80, 1996.

BRATTSTROM, L; WILCKEN, DE. Homocysteine and vascular disease: cause or effect? **Am. J. Clin. Nutr.**, vol. 72, n. 2, p. 315-23, 2000.

BRITO JR., FS; PEDRO, MA; LAURINDO, FRM. Fisiopatologia da reestenose após angioplastia. In: Maffei, FHA; Lastória, S; Yoshida, WB; Rollo, HA. **Doenças Vasculares Periféricas**. Terceira edição. Ed. Medsi. 2002. p. 259-272.

BOSIERS, M; DELOOSE, K; VERBIST, J; PEETERS, P. Carotid artery stenting: which stent for which lesion? **Vascular**, vol. 13, n.4, p. 205-10, 2005.

CALDWELL, RA; AINSWORTH, SD; LANGAN, EM; et al. Calcification and proteoglycan accumulation following balloon angioplasty and stenting. **J. Endovasc. Ther.**, vol. 10, n. 4, p. 801-6, 2003.

CALDWELL, S; MCCARTHY, M; MARTIN, SC; et al. Hyperhomocysteinemia, peripheral vascular disease and neointimal hyperplasia in elderly patients. **Br. J. Surg.**, vol. 85 (suppl 1), p.709, 1998.

CARAMORI, PRA; EGGERS, EE; SILVA-FILHO, APF; et al. Postangioplasty restenosis: a practical model in the porcine carotid artery. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, vol. 30, n. 9, p. 1087-1091, 1997.

CARSON, NA; NEILL, DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. **Arch. Dis. Child.**, vol. 37, p. 505-13, 1962.

CARTER, AJ; SCOTT, D; LAIRD, JR; et al. Progressive vascular remodeling and reduced neointimal formation after placement of a thermoelastic self-expanding nitinol stent in an experimental model. **Cathet. Cardiovasc. Diagn.**, vol. 44, p. 193-201, 1998.

CASTANEDA, F; BALL, SM; WYFFELS, PL; et al. Assesment of a polyester covered nitinol stent in an atherosclerotic swine model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 11, p. 483-91, 2000.

CASTANEDA-ZUNIGA, WR; AMPLATZ, K; LAERUM, F; et al. Mechanics of angioplasty: an experimental approach. **Radiographics**, vol. 1, n. 3, p. 1-14, 1981.

CASTELLI JR., VC. Abordagem dos fatores de risco para aterosclerose. In: SITRÂNGULO JR., C; KAUFFMAN, P. **Doença aterosclerótica periférica**. 1ª edição. São Paulo: BBS Editora, 2004. p. 51-68.

CEJNA, M; VIRMANI, R; JONES, R; et al. Biocompatibility and performance of the wallstent and several covered stents in a sheep iliac artery model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 12, n. 13, p. 351-358, 2001.

CHAO, CL; KUO, TL; LEE, YT. Effects of methionine-induced hyperhomocysteinemia on endothelium-dependent vasodilation and oxidative status in healthy adults. **Circulation**, vol. 101, n. 5, p. 485-90, 2000.

CHEN, C; HALHOS, ME; SUROWIEC, SM; et al. Effects of homocysteine on smooth muscle cell proliferation in both cell culture and artery perfusion culture models. **J. Surg. Res.**, vol. 88, n.1, p. 26-33, 2000.

CHEN, H; FITZGERALD, R; BROWN, AT; et al. Identification of a homocysteine receptor in the peripheral endothelium and its role in proliferation. **J. Vasc. Surg.**, vol. 41, p. 853-60, 2005.

CHIARELLI, F; POMILIO, M; MOHN, A; et al. Homocysteine levels during fasting and after methionine loading in adolescents with diabetic retinopathy and nephropathy. **J. Pediatr.**, vol. 137, n. 3, p. 386-92, 2000.

CHRISTENSEN, B; REFSUM, H; VINTERMYR, O; UELAND, PM. Homocysteine export from cells cultured in the presence of physiological or superfluous levels of methionine: methionine loading of non-transformed, transformed, proliferating, and quiescent cells in culture. **J. Cell. Physiol.**, vol. 146, n.1, p. 52-62, 1991.

CHUAPETCHARASOPON, C; WRIGHT, KC; WALLACE, S; DOBBEN, RL; GIANTURCO, C. Treatment of experimentally induced atherosclerosis in swine iliac arteries: a comparison of self-expanding and balloon-expanded stents. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, vol 15, n. 3, p. 143-150, 1992.

CIPOLLA, MJ; WILLIAMSON, WK; NEHLER, ML; TAYLOR, LM JR; PORTER, JM. The effect of elevated homocysteine levels on adrenergic vasoconstriction of human resistance arteries: The role of the endothelium and reactive oxygen species. **Journal of Vascular Surgery**, vol. 31, n. 4, p. 751-759, 2000.

CLARKE, R; DALY, L; ROBINSON, K; et al. Hyperhomocysteinemia: an independent risk factor for vascular disease. **N. Engl. J. Med.**, vol. 324, n. 17, p. 1149-55, 1991.

CLOFT, HJ; KALLMES, DF; LIN, HB; et al. Bovine type I collagen as an endovascular stent-graft material: biocompatibility study in rabbits. **Radiology**, vol. 214, p. 557-62, 2000.

CLOPATH, P; SMITH, VC; MCCULLY, KS. Growth promotion by homocysteic acid. **Science**, vol. 192, p. 372-4, 1976.

CLOWES, A. Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. In: Rutherford, R.B. **Vascular Surgery**. 5<sup>th</sup> edition. W.B. Saunders. 2000. p. 408-418.

COSTA, MA; SIMON, DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. **Circulation**, vol. 111, p. 2257-2273, 2005.

COSTA, CAF. Cateter balão. In: LOBATO, AC. **Cirurgia Endovascular**. 1ª edição. São Paulo: Instituto de Cirurgia Vascular e Endovascular de São Paulo, 2006. p. 70-85.

COPPOLA, A; DAVI, G; DE STEFANO, V; et al. Homocysteine, coagulation, platelet function, and thrombosis. **Semin. Thromb. Hemost.**, vol. 26, p. 243-54, 2000.

CONSIGNY, PM. The biology of transluminal angioplasty. **J. Vasc. Surg.**, vol. 31, p. 1281-1283, 2000.

COULL, BM; MALINOW, MR, BEAMER, N; et al. Elevated plasma homocysteine concentration as a possible independent risk factor of stroke. **Stroke.**, vol. 21, n. 4, p. 572-576, 1990.

CREASY TS; MCMILLAN, PJ; FLETCHER, EWL; et al. Is percutaneous transluminal angioplasty better than exercise for claudication? Preliminary results from a prospective randomized trial. **Eur. J. Vasc. Surg.**, vol. 4, p. 135-140, 1990.

CRIQUI, MH; FONEK, A; BARRET-CONNAR, E. Prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. **Circulation**, vol. 71, p. 510-5, 1995.

CRUZ, EN; D'ALMEIDA, V; CARDIEN, LC; et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **Jornal Brasileiro de Patologia**, vol. 36, n. 3, p. 166-173, 2000.



CURRIER, JW; FAXON, DP. Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: Have we been aiming at the wrong target? **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 25, p. 516-20, 1995.

DEN HEIJER M, KOSTER T, BLOM HJ, et al. Hyperhomocysteinemia as a risk factor for deep-vein thrombosis. **N. Engl. J. Med.**, vol. 334, p. 759-62, 1996.

DE SMET, BJGL; KUNTZ, RE; VAN DER HELM, YJ; et al. Relationship between plaque mass and neointimal hyperplasia after stent placement in Yucatan micropigs. **Radiology**, vol. 203, p. 484-488, 1997.

DE SMET, BJGL; KLEIJN, D; HANEMAAIJER, R; et al. Metalloproteinase inhibition reduces constrictive arterial remodeling after balloon angioplasty. A study in the atherosclerotic Yucatan micropig. **Circulation**, vol.101, p. 2962-2967, 2000.

DE VRIES, SO; VISSER, K; DE VRIES, JA; et al. Intermittent claudication: cost-effectiveness of revascularization versus exercise therapy. **Radiology.**, vol. 222, n. 1, p. 25-36, 2002.

DOBRIN, PB; LITTOOY, FN; ENDEAN, ED. Mechanical factors predisposing to intimal hyperplasia and medial thickening in autogenous vein grafts. **Surgery**, vol. 105, p. 393-400, 1989.

DOLMATCH, BL. Healing response to vascular stent-grafts. **J. Vasc. Surg.**, vol. 31, p. 1285-1289, 2000.

DONAHUE, S; STRUMAN, JA; GAULL, G. Arteriosclerosis due to homocyst(e)inemia. Failure to reproduce the model in weanling rabbits. **Am. J. Pathol.**, vol. 77, n. 2, p. 167-3, 1974.

DOTTER, CT; JUDKINS MP. Transluminal treatment of arteriosclerotic obstruction: description of a new technique and a preliminary report of its application. **Circulation**, vol. 30, p. 654-70, 1964.

DOTTER, CT. Transluminally placed coilspring endarterial tube grafts: long term patency in canine popliteal artery. **Invest. Radiol.**, vol. 4, p. 329-32, 1969.

DUTRA, C.F.; PEREIRA, A.H. Digital morphometric analysis of the aortic wall in pigs following implantation of dacron-covered stents versus non-covered stents. **Acta. Cir. Bras.**, vol. 19, n. 3, p. 210-219, 2004.

DUDA, SH; BOSIERS, M; LAMMER, J; et al. Drug-eluting and bare nitinol stents for the treatment of atherosclerotic lesions in the superficial femoral artery: long-term results from the SIROCCO trial. **J. Endovasc. Ther.**, vol. 13, n. 6, p. 701-10, 2006.

DUDA, SH; BOSIERS, M; LAMMER, J; et al. Sirolimus-eluting versus bare nitinol stent for obstructive superficial femoral artery disease: the SIROCCO II trial. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 16, p. 331-338, 2005.

DU VIGNEAUD, V; RESSLER, C; RACHELE, JR. The biological synthesis of "labile methyl group". **Science**, vol. 112, n. 2906, p. 267-71, 1950.

EBERHARDT, RT; FORGIONE, MA; CAP, A; et al. Endothelial dysfunction in a murine model of mild hyperhomocyst(e)inemia. **J. Clin. Invest.**, vol. 106, n. 4, p. 483-91, 2000.

FARB, A; WEBER, DK; KOLODGIE, FD; BURKE, AP; VIRMANI, R. Morphological predictors of restenosis after coronary stenting in humans. **Circulation**, vol. 105, n. 25, p. 2974-80, 2002.

FARB, A; SANGIORGI, G; CARTER, AJ; WALLEY, VM; EDWARDS, WD; SCHWARTZ, RS; VIRMANI, R. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. **Circulation**, vol. 99, n. 1, p. 44-52, 1999.

FAXON, DP; SANBORN, TA; WEBER, VJ; HAUDENSCHILD, C, et al. Restenosis following transluminal angioplasty in experimental atherosclerosis. **Arteriosclerosis**, vol. 4, n. 3, p. 189-95, 1984.

FEINGLASS, J; MCCARTHY, WJ; SLAVENSKY, R; et al. Functional status and walking ability after lower extremity bypass grafting or angioplasty for intermittent claudication: results from a prospective outcomes study. **J. Vasc. Surg.**, vol. 31, n. 1 Pt 1, p. 93-103, 2000.

FEUGIER, P; TOURSARKISSIAN, B; CHEVALIER, JM; FAVRE, JP. Endovascular treatment of isolated atherosclerotic stenosis of the infrarenal abdominal aorta: long term outcome. **Ann. Vasc. Surg.**, vol. 17, n. 4, p. 375-85, 2003.

FINKELSTEIN, JD; MARTIN, JJ. Methionine metabolism in mammals: adaptation to methionine excess. **J. Biol. Chem.**, vol. 261, n. 4, p. 1582-87, 1986.

FINKELSTEIN, JD. Methionine metabolism in mammals. **J. Nutr. Biochem.**, vol. 1, p. 228-237, 1990.

FONTAINE, AB; DOS PASSOS, S. Vascular stent prototype: in vivo swine studies. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 8, n. 1, p. 107-11, 1997.

FONTAINE, AB; BORSA, JJ; HOFFER, E; et al. Evaluation of silicone as an endovascular stent membrane: in vivo canine studies. **Cardiovasc. Interv. Radiol.**, vol. 24, p. 324-328, 2001.

FONTAINE, AB; BORSA, JJ; DOS PASSOS, S; et al. Evaluation of local abciximab delivery from the surface of a polymer-coated covered stent: in vivo canine studies. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 12, p. 487-492, 2001.

FOODY, JM. Homocysteine and lipoprotein(a) interact to increase CAD risk in young men and women. **Atheroscler. Thromb. Vasc. Biol.**, vol. 20, n. 2, p. 493-502, 2000.

FOWKES, FGR. Epidemiology of atherosclerotic arterial disease in the lower limbs. **Eur. J. Vasc. Surg.**, vol. 2, p. 238-91, 1988.

FOWLER, B; SCHUTGENS, RB; ROSENBLATT, DS; SMIT, GP; LINDEMANS, J. Folate-responsive homocystinuria and megaloblastic anaemia in a female patient with functional methionine synthase deficiency (cbIE disease). **J. Inherit. Metab. Dis.**, vol. 20, n. 6, p. 731-41, 1997.

FUSTER, V; PEARSON, TA. 27th Bethesda Conference: matching the intensity of risk factor management with the hazard for coronary disease events. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 27, p. 957-1047, 1996.

GALLONI, M; PRUNOTTO, M; SANTARELLI, A; et al. Carbon coated stents implanted in porcine iliac and renal arteries: histologic and histomorphometric study. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, n. 8, p. 1053-61, 2003.

GARASIC, JM; EDELMAN, ER; SQUIRE, JC; et al. Stent and artery geometry determine intimal thickening independent of arterial injury. **Circulation**, vol. 101, p. 812-18, 2000.

GE, J; ERBEL, R; ZAMORANO, J; et al. Coronary artery remodeling in atherosclerotic disease: An intravascular ultrasonic study in vivo. **Coronary Artery Dis.**, vol. 4, p. 981-6, 1993.

GEARY, RL; WILLIAMS, JK; GOLDEN, D; et al. Time course of cellular proliferation, intimal hyperplasia, and remodeling following angioplasty in monkeys with established atherosclerosis. A nonhuman primate model of restenosis. **Arterioscl. Thromb. Vasc. Biol.**, vol. 16, n. 1, p. 34-43, 1996.

GELIN, J; JIVEGARD, L; TAFT, C; et al. Treatment efficacy of intermittent claudication by surgical intervention, supervised physical exercise training compared to no treatment in unselected randomised patients I: one year results of functional and physiological improvements. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 22, n. 2, p. 107-13, 2001.

GERRITSEN, T; VAUGHN, JG; WAISMAN, HA. The identification of homocystine in the urine. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, vol. 9, n. 6, p. 493-6, 1962.

GERRITSEN, T; WAISMAN, HA. Homocystinuria, an error in the metabolism of methionine. **Pediatrics**, vol. 33, p. 413-420, 1964.

GERTZ, SD; GIMPLE, LW; BANAI, S; et al. Geometric remodeling is not the principal pathogenic process in restenosis after balloon angioplasty. **Circulation**, vol. 90, p. 3001-8, 1994.

GIANNINI, MJ; COLEMAN, M; INNERFIELD, I. Letter: Antithrombin activity in homocystinuria. **Lancet.**, vol. 1, n. 7915, p. 1094, 1975.

GIBSON, JB; CARSON, NA; NEILL, DW. Pathological findings in homocystinuria. **J. Clin. Pathol.**, vol. 17, p. 427-37, 1964.

GIMÉNEZ-ARNAU, A; RIAMBAU, V; SERRA-BALDRICH, E; CAMARASA; JG. Metal-induced generalized pruriginous dermatitis and endovascular surgery. **Contact Dermatitis**, vol. 43, n. 1, p. 35-40, 2000.

GLAGOV, S; WEISENBERG, E; ZARINS, C; et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. **N. Engl. J. Med.**, vol. 316, p. 1371-5, 1987.

GOETZ, R; PALMAZ, J; NOELDGE, G; FERMIN, T. Relationship between blood flow, thrombus, and neointima in stents. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 10, n. 5, p. 598-604, 1999.

GOGGINS, WC; FISHER, RA; COHEN, DS; et al. Effect of single-dose rapamycin-based immunosuppression on the development of cardiac allograft vasculopathy. **J. Heart Lung Transplant.**, vol. 15, n. 8, p. 790-5, 1996.

GOODWIN, SC; YOON, HC; CHEN, G; et al. Intense inflammatory reaction to heparin polymer coated intravascular Palmaz stents in porcine iliac arteries compared to uncoated Palmaz stents. **Cardiovasc. Interv. Radiol.**, vol. 26, p. 158-167, 2003.

GOSHAL, NG. Coração e artérias dos suínos. In: SISSON, S; GROSSMAN, JD. **Anatomia dos animais domésticos**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, RJ, 1996. p. 1224-1257.

GRAHAM, IM; DALY, LE; REFSUM, HM; et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. **JAMA**, vol. 277, n. 22, p.1775-81, 1997.

GRINSTEAD, WC; RODGERS, GP; MAZUR, W; et al. Comparison of three porcine restenosis models: the relative importance of hypercholesterolemia, endothelial abrasion, and stenting. **Coron. Artery Dis.**, vol. 5, n. 5, p. 425-34, 1994.

GRUDTNER, M.A.; PEREIRA, A.H.; COSTA, L.F.M.; et al. Efeitos a curto prazo de "stents" não recobertos e recobertos com politetrafluoretileno em aorta de suínos: um modelo experimental. **Acta Cir. Bras.**, vol.19, n .2, p.126-30, 2004.

HAK, AE; POLDERMAN, KH; WESTENDORP, IC; et al. Increased plasma homocysteine after menopause. **Atherosclerosis**, vol. 1, n. 149, p.163-8, 2000.

HAMURO, M; PALMAZ, JC; SPRAGUE, EA; et al. Influence of stent edge angle on endothelialization in an in Vitro model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol 12, p. 607-611, 2001.

HARKER, LA; SLICHTER, SJ; SCOTT, CR; ROSS, R. Homocystinemia. Vascular injury and arterial thrombosis. **N. Engl. J. Med.**, vol. 291, n. 11, p. 537-43, 1974.

HARKER, LA; HARLAN, JM; ROSS, R. Effect of sulfinpyrazone on homocysteine-induced endothelial injury and arteriosclerosis in baboons. **Circ. Res.**, vol. 53, n. 6, p. 731-9, 1983.

HARNEK, J; ZOUCAS, E; STENRAM, U; CWIKIEL, W. Insertion of self-expandable nitinol stents without previous balloon angioplasty reduces restenosis compared with PTA prior to stenting. **Cardiovasc. Interv. Radiol.**, vol. 25, p. 430-36, 2002.

HARTROFT, WS; RIDOUT, JH; SELLER, EA; BEST, CH. Atheromatous changes in aorta, carotid and coronary arteries of choline deficient rats. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, vol. 81, p. 384-93, 1952.

HAYASHI, T; HONDA, G; SUZUKI, K. An atherogenic stimulus homocysteine inhibits cofactor activity of thrombomodulin and enhances thrombomodulin expression in human umbilical vein endothelial cells. **Blood**, vol. 79, n. 11, p. 2930-6, 1992.

HENRY, M; KLONARIS, C; AMOR, M; et al. State of the art: which stent for which lesion in peripheral interventions? **Tex. Heart. Inst. J.**, vol. 27, n. 2, p.119-26, 2000.

HERMILLER, J; TENAGLIA, AN; KISSLO, K; et al. In vivo validation of compensatory enlargement of atherosclerotic coronary arteries. **Am. J. Cardiol.**, vol. 71, p. 665-8, 1993.



HOFFMANN, R; MINTZ, GS; DUSSAILLANT, GR; et al. Patterns and mechanisms of in-stent restenosis - A serial intravascular ultrasound study. **Circulation**, vol. 94, p. 35-43, 1996.

HOOD, DB; HODGSON, KJ. Percutaneous transluminal angioplasty and stenting for iliac artery occlusive disease. **Surgical Clinics of North America**, vol. 79, p. 575-96, 1999.

HUNINK, MG; WONG, JB; DONALDSON, MC; MEYEROVITZ, MF; HARRINGTON, DP. Patency results of percutaneous and surgical revascularization for femoropopliteal arterial disease. **Med. Decis. Making.**, vol. 14, n. 1, p. 71-81, 1994.

INOUE, S; KOYAMA, H; MIYATA, T; SHIGEMATSU, H. Pathogenetic heterogeneity of in-stent lesion formation in human peripheral arterial disease. **J. Vasc. Surg.**, vol. 35, p. 672-8, 2002.

JACOB, RA; WU, MM; HENNING, SM; SWENDSEID, ME. Homocysteine increases as folate decreases in plasma of healthy men during short-term dietary folate and methyl group restriction. **J. Nutr.**, vol. 124, n. 7, p. 1072-80, 1994.

JACOBSEN, DW; GATAUTIS, VJ; GREEN, R; et al. Rapid HPLC determination of total homocysteine and other thiols in serum and plasma: Sex differences and correlation with cobalamin and folate concentrations in healthy subjects. **Clin. Chem.**, vol. 40, n. 6, p. 873-881, 1994.

JACQUES, PF; BOSTOM, AG; WILLIAMS, RR; ELLISON, RC. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. **Circulation**, vol. 93, n. 1, p. 7-9, 1996.

JAHNKE T, VOSHAGE G, MÜLLER-HÜLSBECK S, GRIMM J, HELLER M, BROSSMANN J. Endovascular placement of self-expanding nitinol coil stents for the treatment of femoro-popliteal obstructive disease. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 13, n. 3, p. 257-66, 2002.

JAHNKE, T; ANDRESEN, R; MULLER-HULSBECK, S; et al. Hemobahn stent-grafts for treatment of femoropopliteal arterial obstructions: midterm results of a prospective trial. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, p. 41-51, 2003.

JAMAL, A; BENDEK, M; LANGILLE, BL. Structural changes and recovery of function after arterial injury. **Arterioscler. Thromb.**, vol. 12, p. 307-17, 1992.

JONES, BG; ROSE, FA; TUDBALL, N. Lipid peroxidation and homocysteine induced toxicity. **Atherosclerosis**, vol. 105, p. 165-70, 1994.

JOOSTEN, E; VAN DER BERG, A; RIEZLER, R. Metabolic evidence that deficiencies of vitamin B12 (cobalamin), folate, and vitamin B6 occur commonly in elderly people. **Am. J. Clin. Nutr.**, vol. 58, p. 468-476, 1993.

JUNIOR, JF; JACQUES, NMP. Próteses endovasculares (stents). In: Maffei, FHA; Lastória, S; Yoshida, WB; Rollo, HA. **Doenças Vasculares Periféricas**. Terceira edição. Ed. Medsi. 2002. p. 871-889.

JUNIOR, JF; JACQUES, NMP. Angioplastia transluminal percutânea. In: Maffei, FHA; Lastória, S; Yoshida, WB; Rollo, HA. **Doenças Vasculares Periféricas**. Terceira edição. Ed. Medsi. 2002. p. 843-864.

KAKUTA, T; CURRIER, JW; HAUDENSCHILD, CC; RYAN, TJ; FAXON, DP. Differences in compensatory vessel enlargement, not intimal formation, account for restenosis after angioplasty in the hypercholesterolemic rabbit model. **Circulation**, vol. 89, p. 2809-15, 1994.

KANG, SS; WONG, PW; BOCK, HG; HORWITZ, A; GRIX, A. Intermediate hyperhomocysteinemia resulting from compound heterozygosity of methylenetetrahydrofolate reductase mutations. **Am. J. Hum. Genet.**, vol. 48, n .3, p. 546-51, 1991.

KANG, SS; PASSEN, EL; WONG, PW; SORA, H. Thermolabile defect of methylenetetrahydrofolate reductase in coronary artery disease. **Circulation**, vol. 88, n. 4, Pt 1, p. 1463-9, 1993.

KANNEL, WB; SYTKOWSKI, PA. Atherosclerosis risk factors. **Pharmac. Ther.**, vol. 32, p. 207-235, 1987.

KARAS, SP; GRAVANIS, MB; SANTOIAN, EC; et al. Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: an animal model of restenosis. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 20, p. 467-74, 1992.

KASTRATI, A; SCHOMIG, A; DIETZ, R; NEUMANN, FJ; RICHARDT, G. Time course of restenosis during the first year after emergency coronary stenting. **Circulation**, vol. 87, p. 1498-505, 1993.

KAUFFMAN, P. Diagnóstico e tratamento intervencionista da DAOP. In: SITRÂNGULO JR., C; KAUFFMAN, P. **Doença aterosclerótica periférica**. 1ª edição. São Paulo: BBS Editora, 2004. p. 101-126.

KIMURA, T; NOSAKA, H; YOKOI, H; IWABUCHI, M; NOBUYOSHI, M. Serial angiographic follow-up after Palmaz-Schatz stent implantation: comparison with conventional balloon angioplasty. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 21, p. 1557-63, 1993.

KIMURA, T; YOKOI, H; NAKAGAWA, Y; et al. Three-year follow-up after implantation of metallic coronary artery stents. **N. Engl. J. Med.**, vol. 334, p. 561-6, 1996.

KLEVSGARD, R; RISBERG, BO; THOMSEN, MB; HALLBERG, IR. A 1-year follow-up quality of life study after hemodynamically successful or unsuccessful surgical revascularization of lower limb ischemia. **J. Vasc. Surg.**, vol. 33, n. 1, p. 114-22, 2001.

KORNOWSKI, R; MINTZ, GS; KENT, KM; et al. Increased restenosis in diabetes mellitus after coronary interventions is due to exaggerated intimal hyperplasia. A serial intravascular ultrasound study. **Circulation**, vol. 95, p. 1366-1369, 1997.

KRISHNASWAMY, K; RAO, SB. Failure to produce atherosclerosis in *Macaca radiata* on a high-methionine, high-fat, pyridoxine-deficient diet. **Atherosclerosis**, vol. 27, n. 3, p. 253-8, 1977.

KRUEGER, KD; MITRA, AK; DELCORE, MG; et al. A comparison of stent-induced stenosis in coronary and peripheral arteries. **J. Clin. Pathol.**, vol. 59, n. 6, p. 575-9, 2006.

KUTRYK, M; KULISZEWSKI, MA. In vivo endothelial progenitor cell seeding for the accelerated endothelization of endovascular devices. **Am. J. Cardiol.**, vol. 92, n. 6, suppl 1, p. 94L (abstract), 2003.

LAFONT, A; GUZMAN, LA; WHITLOW, PL; et al. Restenosis after experimental angioplasty. Intimal medial and adventitial changes associated with constrictive remodeling. **Circ. Res.**, vol. 76, p. 996-1002, 1995.

LAMBERT, AW; BUDD, JS; FOX, AD; et al. The incorporation of a stent graft into the porcine aorta and the inflammatory response to the endoprosthesis. **Cardiovasc. Surg.**, vol. 7, n. 7, p. 710-714, 1999.

LAMMER, J; DAKE, MD; BLEYN, J; KATZEN, BT; et al. Peripheral arterial obstruction: prospective study of treatment with a transluminally placed self-expanding stent-graft. International Trial Study Group. **Radiology.**, vol. 217, n. 1, p. 95-104, 2000.

LAMMER, J. Femoropopliteal Artery Obstruction: From the Balloon to the Stent Graft. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, vol. 24, p. 73-83, 2001.

LANDIS, MS; RAJAN, DK; SIMONS, ME; et al. Percutaneous management of chronic mesenteric ischemia: outcomes after intervention. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 16, p. 1319-1325, 2005.

LANGILLE, BL; BENDECK, M; KEELEY, FW. Adaptations of carotid arteries of young and mature rabbits to reduced carotid blood flow. **Am. J. Physiol.**, vol. 256, p. H931-H9, 1989.

LANGILLE, BL; O'DONNELL, F. Reductions in arterial diameter produced by chronic decreases in blood flow are endothelium-dependent. **Science**, vol. 231, p. 405-7, 1986.

LAURINDO, FRM; PEDRO, MA; LUZ, PL; AUGUSTO, O. - Active oxygen species as signaling mediators in the vascular system. **Ciência e Cultura: The Journal of the Brazilian Association for the Advancement of Science**, vol. 48, p. 18-27, 1996.

LASTÓRIA, S; MAFFEI, FHA. Aterosclerose obliterante periférica: epidemiologia, fisiopatologia, quadro clínico e diagnóstico. In: Maffei, FHA. **Doenças vasculares periféricas**. 2002. p. 1007-1024.

LAXDAL, E; EIDE, GE; WIRSCHING, J; et al. Homocysteine levels, haemostatic risk factors and patency rates after endovascular treatment of the above-knee femoro-popliteal artery. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 28, p. 410-417, 2004.

LENTZ SR, ERGER RA, DAYAL S, et al. Folate dependence of hyperhomocysteinemia and vascular dysfunction in cystathionine beta-synthase-deficient mice. **Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.**, vol. 279, n. 3, p. 970-5, 2000.

LEUNG, DA; SPINOSA, DJ; HAGSPIEL, KD; et al. Selection of stents for treating iliac arterial occlusive disease. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, n. 2, Pt I, p. 137-52, 2003.

LEVY, D; KANNEL, WB. Cardiovascular risks: new insights from Framingham. **Am. Heart J.**, vol. 116, p. 266-72, 1988.

LIBBY, P; RIDKER, P; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, vol. 105, p. 1135-1143, 2002.

LIERMANN, DD; BOETTCHER, HD; KOLLATCH, J; et al. Prophylactic endovascular radiotherapy to prevent intimal hyperplasia after stent implantation in femoro-popliteal

arteries. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, vol. 77, p. 2-16, 1994.

LIN, PH; CHRONOS, NA; MARIJANOWSKI, MM; et al. Carotid stenting using heparin-coated balloon-expandable stent reduces intimal hyperplasia in a baboon model. **Journal of Surgical Research**, vol. 112, p.84-90, 2003.

LIN, PH; CHRONOS, NA; MARIJANOWSKI, MM; et al. Heparin-coated balloon-expandable stent reduces intimal hyperplasia in the iliac artery in baboons. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, p. 603-611, 2003.

LING, Q; HAJJAR, KA. Inhibition of endothelial cell thromboresistance by homocysteine. **J. Nutr.**, vol. 130, n. 2S, Suppl, p. 373S-376S, 2000.

LIU, MW; ROUBIN, GS; KING III, S. Restenosis after coronary angioplasty. **Circulation**, vol. 79, p. 1373-87, 1989.

LOBATO, AC. Stents vasculares. In: LOBATO, AC. **Cirurgia Endovascular**. 1ª edição. São Paulo: Instituto de Cirurgia Vascular e Endovascular de São Paulo, 2006. p. 83-96.

LOTUFO, PA. Epidemiologia das doenças cardíacas no Brasil: histórico, situação atual e proposta de modelo teórico. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, vol. 6, n. 5, p. 541-7, 1996.

LUSCHER, TF; BARTON, M. Biology of the endothelium. **Clin. Cardiol.**, vol. 20, p. 3-10, 1997.

LUSIS, AJ. Atherosclerosis. **Nature**, vol. 407, p. 233-41, 2000.

MALINOW, MR; AXTHELM, MK; MEREDITH, MJ; et al. Synthesis and transsulfuration of homocysteine in blood. **J. Lab. Med.**, vol.123, n. 3, p. 421-429, 1994.

MAJESKY, MW. Neointima formation after acute vascular injury. **Texas Heart Institute Journal**, vol. 21, p. 78-85, 1994.

MANGELL, P; MALINA, M; VOGT, K; et al. Are self-expanding stents superior to balloon-expanded in dilating aortas? An experimental study in pigs. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol.12, n .3, p. 287-94, 1996.

MANSOOR, MA; SVARDAL, AM; UELAND, PM. Determination of the in vivo redox status of cysteine, cysteinylglycine, homocysteine, and glutathione in human plasma. **Anal. Biochem.**, vol. 200, p. 218-229, 1992.

MARIANO, M. Minisuíno (minipig) na pesquisa biomédica experimental. O minipig br1. **Acta Cir. Bras.**, vol. 18, n. 5, p. 387-391, 2003.

MARTINEZ, TLR; MARTINEZ FILHO, EE. Fisiopatologia das lesões ateroscleróticas e da reestenose. In: CARNEVALE, FC. **Radiologia Intervencionista e Cirurgia Endovascular**. Editora Revinter, Rio de Janeiro, RJ. 2006. p. 84-90.

MARTY, B; LEU, AJ; MUCCILOLO, A; VON SEGESSER, LK. Biologic fixation of polyester- versus polyurethane-covered stents in a porcine model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 13, n. 6, p. 601-7, 2002.

MAYER, EL; JACOBSEN, DW; ROBINSON, K. Homocysteine and coronary arteriosclerosis. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 27, n. 3, 517-27, 1996.



MAZUR, W; ALI, MN; DABAGHI, SF; CRISTEAD, C; ABUKHALIL, J; et al. High dose rate intracoronary radiation suppresses neointimal proliferation in the stented and ballooned model of porcine restenosis. **Circulation**, vol. 90, suppl, p. 1-652. Abstract, 1994.

MCCULLY, KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. **Am. J. Pathol.**, vol. 56, n. 1, p. 111-28, 1969.

MCCULLY, KS; RAGSDALE, BD. Production of arteriosclerosis by homocysteinemia. **Am. J. Pathol.**, vol. 61, n. 1, p. 1-11, 1970.

MCCULLY, KS, WILSON, RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 22, p. 215-27, 1975.

MCCULLY, KS. Homocysteine and vascular disease. **Nature Medicine**, vol. 2, n. 4, p. 386-9, 1996.

MACDOWELL, IF; LANG, D. Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease. **J. Nutr.**, vol. 130, n. 2, S Suppl, p. 369S-372S, 2000.

MCPHERSON, D; SIRNA, S; HIRATZKA, L; et al. Coronary arterial remodeling studied by high-frequency epicardial echocardiography: an early compensatory mechanism in patients with obstructive coronary atherosclerosis. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 17, p. 79-86, 1991.

MEWISSEN, MW. Self-expanding nitinol stents in the femoropopliteal segment: technique and mid-term results. **Tech. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 7, n. 1, p. 2-5, 2004.

MINTZ, SM; KOVAK, JA; JAVIER, S; DITRANO, CJ; LEON, MB. Geometric remodeling is the predominant mechanism of late luminal loss after coronary angioplasty. **Circulation**, vol. 88, p. I-654, 1993.

MINTZ, SM; PICHARD, AD; KENT, KM; et al. Endovascular stents reduce restenosis by eliminating geometric arterial remodeling: a serial intravascular ultrasound study. **J. Am. Coll. Cardiol.**, 36A, 1995.

MINTZ, GS; POPMA, JJ; PICHARD, AD; et al. Arterial remodeling after coronary angioplasty - A serial intravascular ultrasound study. **Circulation**, vol. 94, p. 35-43, 1996.

MONTENEGRO, MRG. Estrutura da parede vascular e suas implicações na fisiopatologia das doenças vasculares periféricas. In: MAFFEI, FHA. **Doenças Vasculares Periféricas**. Editora Medsi, Rio de Janeiro, RJ. Segunda edição. 1995. p. 3-27.

MOREIRA, AM. Materiais. In: CARNEVALE, FC. **Radiologia Intervencionista e Cirurgia Endovascular**. Editora Revinter, Rio de Janeiro, RJ. 2006. p. 33-55.

MOSES, JW; LEON, MB; POPMA, JJ; et al. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. **N. Engl. J. Med.**, vol. 349, n. 14, p.1315-23, 2003.

MUDD, SH; UHLENDORF, BW; FREEMAN, JM; FINKELSTEIN, JD; SHIH, VE. Homocystinuria associated with decreased methylenetetrahydrofolate reductase activity. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, vol. 46, n. 2, p. 905-12, 1972.

MULLER-HULSBECK, S; WALLUSCHECK, KP; PRIEBE, M; et al. Experience on endothelial cell adhesion on vascular stents and stent-grafts: First in vitro results. **Invest. Radiol.**, vol. 37, p. 314-320, 2002.

NARAYANASWAMY, M; WRIGHT, KC; KANDARPA, K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol.11, p.5-17, 2000.

NARUSZEWICZ, M; MIKIEWICZ, E; OLSZEWSKI, AJ; Mc CULLY, KS. Thiolation of low density lipoprotein by homocysteine thiolactone causes increase aggregation and altered interaction with cultured macrophages. **Nutr. Metal. Cardiovasc. Dis.**, vol. 4, p. 70-7, 1994.

NAKAYAMA, Y; NISHI, S; ISHIBASHI-UEDA, H. Fabrication of drug-eluting covered stents with micropores and differential coating of heparin and FK506. **Cardiovascular Radiation Medicine**, vol. 4, p. 77-82, 2003.

NEHLER, MR; TAYLOR JR, LM. Homocysteinemia as a risk factor for atherosclerosis: a review. **Cardiovasc. Surg.**, vol. 5, p. 559-67, 1997.

NELKEN, N; SCHNEIDER, PA. Advances in stent technology and drug-eluting stents. **Surg. Clin. N. Am.**, vol. 84, p.1203-1236, 2004.

NISHINAGA, M; OZAWA, T; SHIMADA, K. Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulfate expression in cultured porcine aortic endothelial cells. **J. Clin. Invest.**, vol. 92, n. 3, p. 1381-6, 1993.

NUNES, GL; SGOUTAS, DS; REDDEN, RA; et al. Combinations of vitamins C and E alters the response to coronary balloon injury in the pig. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, vol. 15, p. 156-65, 1995.

NYGARD, O; VOLLSET, SE; REFSUM, H; et al. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. **JAMA**, vol. 274, p. 1526-33, 1995.

OLSZEWSKI AJ, SZOSTAK WB, BIALKOWSKA M, RUDNICKI S, MCCULLY KS. Reduction of plasma lipid and homocysteinemia levels by pyridoxine folate, choline, riboflavin, and troxerutin in atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 75, p. 1-6, 1989.

OMBRELLARO, MP; STEVENS, SL; SCIARROTTA, J; SCHAEFFER, DO. Effect of balloon-expandable and self expanding stent fixation on endoluminal polytetrafluoroethylene graft healing. **Am. J. Surg.**, vol. 173, p. 461-466, 1997.

PALARETI, G; COCCHERI, S. Lowered antithrombin III activity and other clotting changes in homocystinuria: effects of a pyridoxine-folate regimen. **Haemostasis**, vol. 19, Suppl 1, p. 24-8, 1989.

PALMAZ, JC; SIBBITT, R; REUTER, S; et al. Expandable intraluminal graft: preliminary study. **Radiology**, vol. 156, p.72-77, 1985.

PALMAZ, JC; WINDELER, SA; GARCIA, FM; et al. Atherosclerosis rabbits aorta: expandable intraluminal grafting. **Radiology**, vol.160, p.723-726, 1986.

PALMAZ, JC; TIO, FO; SCHATZ, RA; ALVARADO, R; REES, C; GARCIA, FS. Early endothelialization of balloon-expandable stents: experimental observations. **J. Intervent. Radiol.**, vol. 3, p. 119– 124, 1988.

PALMAZ, JC. Intravascular stents: tissue stent interactions and design considerations. **Am. J. Roentgenol.**, vol. 160, p. 613-618, 1993.

PALMAZ, JC. Biopolymers for endovascular use. **Sem. Interv. Radiol.**, vol. 15, p. 13-19, 1998.

PALMAZ, JC; BAILEY, S; MARTON, D; SPRAGUE, E. Influence of stent design and material composition on procedure outcome. **J. Vasc. Surg.**, vol. 36, p. 1031-9, 2002.

PANGANAMALA, RV; KARPEN, CW; MEROLA, AJ. Peroxide mediated effects of homocysteine on arterial prostacyclin synthesis. **Prostaglandins Leukot. Med.**, vol. 22, n. 3, p. 349-56, 1986.

PARK, SJ; SHIM, WH; HO, DS; et al. A paclitaxel-eluting stent for the prevention of coronary restenosis. **N. Engl. J. Med.**, vol. 348, n. 16, p. 1537-45, 2003.

PASQUINELLI, G; FREYRIE, A; PREDA, P; CURTI, T; et al. Healing of prosthetic arterial grafts. (Review). **Scanning Microsc.**, vol. 4, p. 351-362, 1990.

PELL, JP. Impact of intermittent claudication on quality of life. The Scottish Vascular Audit Group. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 9, n. 4, p. 469-72, 1995.

PERKINS, JM; COLLIN, J; CREASY, TS; et al. Exercise training versus angioplasty for stable claudication: long and medium terms results of a prospective, randomized trial. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 11, p. 409-413, 1996.

PISCO, JM; CORREIA, M; ESPERANCA-PINA, JA; DE SOUSA, LA. Vasa vasorum changes following stent placement in experimental arterial stenoses. **J. Vasc. Intervent. Radiol.**, vol. 4, p. 269–273, 1993.

POST, MJ; BORST, C; KUNTZ, RE. The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty: a study in the normal rabbit and hypercholesterolemic Yucatan minipig. **Circulation**, vol. 89, p. 2816-2821, 1994.

PUECH-LEÃO, P. Angioplastia transluminal percutânea. In: CARNEVALE, FC. **Radiologia Intervencionista e Cirurgia Endovascular**. Editora Revinter, Rio de Janeiro, RJ. 2006. p. 117-121.

RABELO, LM; COTRIM, FLS; NOVAZZI, JP; MARTINEZ, TLR. Fibrinogênio e aterosclerose. In: Martinez TLR, Lourenço DM, editores. **Avaliação e conduta nos riscos tromboaterogênicos**. São Paulo: Art Plus; 1996. p. 31-43.

RATCLIFFE, HL; LUGINBUHL, H. The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 13, p. 133-136, 1971.

REDDY, GS; WILCKEN, DE. Experimental homocysteinemia in pigs: comparison with studies in sixteen homocystinuric patients. **Metabolism.**, vol. 31, n. 8, p. 778-83, 1982.

REFSUM, H; HELLAND, S; UELAND, PM. Radioenzimic determination of homocysteine in plasma and urine. **Clin. Chem.**, vol. 31, n. 4, p. 642-8, 1985.

REFSUM, H; CHRISTENSEN, B; DJURHUUS, R; UELAND, PM. Interaction between methotrexate, "rescue" agents and cell proliferation as modulators of homocysteine export from cells in culture. **J. Pharmacol. Exp. Ther.**, vol. 258, n. 2, p. 559-566, 1991.

RICHTER, GM; PALMAZ, JC; NOELDEGE, G; TIO, F. Relationship between blood flow, thrombus, and neointima in stents. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 10, n. 5, p. 598-604, 1999.

ROBINSON, KA; ROUBIN, G; KING, S. Correlated microscopic observations of arterial responses to intravascular stenting. **Scannig Microsc.**, vol. 3, p. 665-672, 1989.

RODGERS, GM; KANE, WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. **J. Clin. Invest.**, vol. 77, n. 6, p. 1909-16, 1986.

RODGERS, GM; CONN, MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. **Blood**, vol. 75, n. 4, p. 895-901, 1990.

ROGERS, C; EDELMAN, ER. Endovascular stent design dictates experimental restenosis and thrombosis. **Circulation**, vol. 91, p. 2995-3001, 1995.

ROGERS, C; TSENG, DY; SQUIRE, JC; EDELMAN, ER. Balloon artery interactions during stent placement. A finite element analysis approach to pressure, compliance, and stent design as contributors to vascular injury. **Circ. Res.**, vol. 84, p. 378-383, 1999.

ROLLAND, PH; FRIGGI, A; BARLATIER, A; et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril - hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. **Circulation**, vol. 91, n. 4, p. 1161-74, 1995.

ROLLAND, PH; BARTOLI, JM; PIQUET, PH; et al. Local delivery of NO-donor molsidomine post PTA improves haemodynamics, wall mechanics and histomorphometry in atherosclerotic porcine SFA. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 23, p. 226-233, 2002.

ROLLAND, PH; MEKKAOU, C; VIDAL, V; et al. Compliance matching stent placement in the carotid artery of the swine promotes optimal blood flow and attenuates reestenosis. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 28, p. 431-438, 2004.

ROSS, R; GLOMSET, JA. The pathogenesis of atherosclerosis. **N. Eng. J. Med.**, vol. 295, p. 369, 1976.

ROSS, H. The pathogenesis of atherosclerosis. In: Braunwald E. **Hearth Disease - A Textbook of Cardiovascular Medicine**. Philadelphia: W. B. Saunders Co; 1997. p. 1105-1125.

ROSS, R. Cellular and molecular studies of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 131, p. S3, 1997.

ROUSSEAU, H; JOFFRE, J; PUEL, J; et al. Percutaneous vascular stent: experimental studies and preliminary clinical results in peripheral arterial diseases. **Int. Angiol.**, vol. 6, n. 2, p. 153-61, 1987.



SABETI, S; CZERWENKA-WENKSTETTEN, A; DICK, P; et al. Quality of life after balloon angioplasty versus stent implantation in the superficial femoral artery: findings from a randomized controlled trial. **J. Endovasc. Ther.**, vol. 14, n. 4, p. 431-7, 2007.

SANGIORGI, G; ARBUSTINI, E; LANZARINI, P; et al. Nonbiodegradable expanded polytetrafluoroethylene-covered stent implantation in porcine peripheral arteries: histologic evaluation of vascular wall response compared with uncoated stents. **Cardiovasc. Interv. Radiol.**, vol. 24, p. 260-270, 2001.

SCHATZ, RA; PALMAZ, JC; TIO, FO; GARCIA, FJ; REUTER, SR. Balloon-expandable intracoronary stents in the adult dog. **Circulation**, vol. 76, p. 450–457, 1987.

SCHEINERT, D; SCHEINERT, S; SAX, J; et al. Prevalence and clinical impact of stent fractures after femoropopliteal stenting. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 45, p. 312-5, 2005.

SCHILLINGER, M; SABETI, S; DICK, P; et al. Sustained benefit at 2 years of primary femoropopliteal stenting compared with balloon angioplasty with optional stenting. **Circulation**, vol. 115, n. 21, p. 2745-9, 2007.

SCHIMKE, RN; MCKUSICK, VA; HUANG, T; POLLACK, AD. Homocystinuria. Studies of 20 families with 38 affected members. **JAMA**, vol. 193, p. 711-9, 1965.

SCHNEIDER, PA. Stents. Endovascular Repaving. In: **Endovascular Skills: Guidewire and Catheter skills for Endovascular Surgery**. Second Edition. Marcel Dekker, Inc. 2003, p. 237-270.

SCHURMANN, K; VORWERK, D; UPPENKAMP, R; et al. Iliac arteries: Plain and heparin coated Dacron covered stent grafts compared with noncovered metal stents - an experimental study. **Radiology**, vol. 203, p. 55-63, 1997.

SCHURMANN, K; VORWERK, D; UPPENKAMP, R; et al. Determination of stent stenosis: an in vivo experimental comparison of intravascular ultrasound and angiography with histology. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, vol. 21, p. 189-98, 1998.

SCHURMANN, K; HAAGE, P; MEYER, J; et al. Comparison of two stent grafts with different porosity: in vivo studies in a sheep model. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 11, p. 493-502, 2000.

SCOTT, NA; CIPOLLA, GD; ROSS, CE; et al. Identification of a potential role for the adventitia in the vascular lesion formation after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries. **Circulation**, vol. 93, p. 2178-87, 1996.

SELHUB, J; JACQUES, PF; WILSON, PWF; RUSH, D; ROSENBERG, LH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. **JAMA**, vol. 270, n. 22, p. 2693-8, 1993.

SEKIYA, M; FUNADA, J; WATANABE, K; MIYAGAWA, M; AKUTSU, H. Effects of probucol and cilostazol alone and in combination on frequency of poststenting restenosis. **Am. J. Cardiol.**, vol. 82, n. 2, p. 144-7, 1998.

SHI, Y; PIENIEK, M; FARD, A; O'BRIEN, J; MANNION, JD; ZALEWSKI, A. Adventitial remodeling after coronary arterial injury. **Circulation**, vol. 93, p. 340-8, 1996.

SHIH, CC; LIN, SJ; CHEN, YL; SU, YY; LAI, ST; WU, GJ; KWOK, CF; CHUNG, KH. The cytotoxicity of corrosion products of nitinol stent wire on cultured smooth muscle cells. **J. Biomed. Mater. Res.**, vol. 52, n. 2, p. 395-403, 2000.

SHIMOTAKAHARA, S; MAYBERG, MR. Gamma irradiation inhibits neointimal hyperplasia in rats after arterial injury. **Stroke**, vol. 25, p. 424-428, 1994.

SIGWART, U; PUEL, J; MIRKOVITCH, V; et al. Intravascular stents to prevent occlusion and reestenosis after transluminal angioplasty. **N. Engl. J. Med.**, vol. 316, p. 701, 1987.

SIMONI, G; GALLEANO, R; CEPPA, P; et al. Prevention of vascular intimal hyperplasia in small caliber prosthesis. **Minerva Cardioangiol.**, vol. 43, p. 205-209, 1995.

SISSON, S. Músculos do suíno. In: SISSON, S; GROSSMAN, JD. **Anatomia dos Animais domésticos**. Editora Guanabara, Rio de Janeiro, RJ. 1996, p. 1176-1187.

SITRÂNGULO JR, CJ. Angioplastia e stents em aterosclerose aortoiliaca. **Rev. Soc. Cardiol. Estado de São Paulo**, vol. 9, n. 6, p. 897-905, 1999.

SMOLIN, LA; CRENSHAW, TD; KURTYCZ, D; BENEVENGA, NJ. Homocyst(e)ine accumulation in pigs fed diets deficient in vitamin B-6: relationship to atherosclerosis. **J. Nutr.**, vol. 113, n. 10, p. 2022-33, 1983.

SOCIETY OF INTERVENTIONAL RADIOLOGY STANDARDS OF PRACTICE COMMITTEE. Guidelines for Percutaneous Transluminal Angioplasty. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, p. S209-S217, 2003.

SOUTHERN, FN; CRUZ, N; FINK, LM; et al. Hyperhomocysteinemia increases intimal hyperplasia in a rat carotid endarterectomy model. **J. Vasc. Surg.**, vol. 28, n. 5, p. 756-60, 1998.

SOUZA, AM. Homocisteína e doença arterial coronária: estudo em 195 pacientes submetidos à cinecoronariografia. Curitiba, 1997. Tese (Doutorado em Clínica Médica) – Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

STAHLKE JR., HJ; FRANÇA, LHG; STAHLKE, PH; STAHLKE, PS. Hiperhomocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos - modelo experimental. **J. Vasc. Bras.**, vol. 3, n. 1, p. 20-30, 2004.

STARKEBAUM, G; HARLAN, JM. Endothelial cell injury due to copper-catalyzed hydrogen peroxide generation from homocysteine. **J. Clin. Invest.**, vol. 77, n. 4, p. 1370-6, 1986.

STAMLER, JS; OSBORNE, JA; JARAKI, O; et al. Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen. **J. Clin. Invest.**, vol. 91, n. 1, p. 308-18, 1993.

STAMPFER, MJ; MALINOW, MR; WILLETT, WC; et al. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. **JAMA**, vol. 268, n. 7, p. 877-81, 1992.

STEAD, LM; BROSANAN, ME; BROSANAN, JT. Characterization of homocysteine metabolism in the rat liver. **Biochem. J.**, vol. 15, n. 350, p. 685-92, 2000.

STEINBERG, D; PARTHASARATHY, S; CAREW, T; et al. Beyond cholesterol modifications of low density lipoprotein that increase its atherogenicity. **N. Engl. J. Med.**, vol. 320, n. 14, p. 915-924, 1989.

STOECKELHUBER, BM; MEISSNER, O; STOECKELHUBER, M; et al. Primary endovascular stent placement for focal infrarenal aortic stenosis: initial and midterm results. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 14, n. 11, p. 1443-7, 2003.

SULLIVAN, T.M.; AINSWORTH, S.D.; LANGAN, E.M.; et al. Effect of endovascular stent strut geometry on vascular injury, myointimal hyperplasia and restenosis. **J. Vasc. Surg.**, vol. 36, p. 143-9, 2002.

SUROWIEC, SM; DAVIES, MG; EBERLY, SW; et al. Percutaneous angioplasty and stenting of the superficial femoral artery. **J. Vasc. Surg.**, vol. 41, p. 269-78, 2005.

TAFT, C; KARLSSON, J; GELIN, J; et al. Treatment efficacy of intermittent claudication by invasive therapy, supervised physical exercise training compared to no treatment in unselected randomised patients II: one-year results of health-related quality of life. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 22, n. 2, p. 114-23, 2001.

TAYLOR JR., LM; DE FRANG, RD; HARRIS, EJ; PORTER, JM. The association of elevated plasma homocyst(e)ine with progression of symptomatic peripheral arterial disease. **J. Vasc. Surg.**, vol. 13: p. 128-36, 1991.

TAYLOR, LM; MONETA, G; SEXTON, GJ; et al. Prospective blinded study of the

relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. **J. Vasc. Surg.**, vol. 29, p. 8-21, 1999.

TCT Annual Meeting: Peripheral — Superficial Femoral Artery. **Journal of Interventional Cardiology**, vol. 19, n. 2, p. 200–201, 2004.

TETTEROO, E; VAN ENGELEN, AD; SPITHOVEN, JH; et al. Stent placement after iliac angioplasty: comparison of hemodynamic and angiographic criteria. **Radiology**, vol. 201, p. 155-159, 1996.

TETTEROO, E; VAN DER GRAAF, Y; BOSCH, JL; et al. Randomised comparison of primary stent placement versus primary angioplasty followed by selective stent placement in patients with iliac-artery occlusive disease. **Lancet**, vol. 351, p. 1153-1159, 1998.

TSAI, JC; PERRELLA, MA; YOSHIKUMI, M; et al. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. **Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.**, vol. 91, n. 14, p. 6369-73, 1994.

UBBINK, JB; VANDERMERWE, A; VERMAAK, WJH; DELPORT, R. Homocysteinemia and the response to vitamin supplements. **Clin. Investig.**, vol. 71, p. 993-8, 1993.

UELAND, PM; REFSUM, H. Plasma homocysteine, a risk factor for vascular disease: plasma levels in health, disease and drug therapy. **J. Lab. Clin. Med.**, vol. 114, p. 473-501, 1989.

UELAND, PM; REFSUM, H; BRATTSTROM, L. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. In: Francis Jr., RB. **Atherosclerotic cardiovascular disease**,

**hemostasis and endothelial function.** New York: Marcel Dekker, Inc., 1992. p. 183-236.

UFLACKER, R. Técnica: materiais e hemodinâmica. In: UFLACKER, R. **Radiologia Intervencionista.** 1ª edição. Editora Sarvier. 1987. p. 406-422.

VAN BEUSEKOM, HMM; POST, MJ; WHELAN, DM; et al. Metalloproteinase inhibition by batimastat does not reduce neointimal thickening in stented atherosclerotic porcine femoral arteries. **Cardiovasc. Rad. Med.**, vol. 4, p. 186-191, 2003.

VAN DER BAS, JMA; QUAX, PHA; VAN DEN BERG, AC; et al. Ingrowth of aorta wall into stent grafts impregnated with basic fibroblast growth factor: A porcine in vivo study of blood vessel prosthesis healing. **J. Vasc. Surg.**, vol. 39, p. 850-8, 2004.

VAN DER PUTT, NMJ; STEEGERS-THEUNLSEN, RPM; FROSST, P; et al. Mutated methylenetetrahydrofolate reductase as a risk factor for spina bifida. **Lancet**, vol. 346, p. 1070-71, 1995.

VANE, JR; ANGGARD, EE; BOTTING, RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. **N. Engl. J. Med.**, vol. 323 p. 27-36; 1990.

VENÂNCIO, L.S.; BURINI, R.C.; YOSHIDA, W.B. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **J. Vasc. Bras.**, vol. 3, n. 1, p. 31-7, 2004.

VERHEYE, S; SALAME, MY; ROBINSON, KA; et al. Short and long term histopatologic evaluation of stenting using a self-expanding nitinol stent in pig carotid and iliac arteries. **Catheter Cardiovasc. Interv.**, vol. 48, n. 3, p. 316-23, 1999.

VERMEULEN, EGJ; NIESSEN, HWJ; BOGELS, M; et al. Decreased smooth muscle cell/extracellular matrix ratio of media of femoral artery in patients with atherosclerosis and hyperhomocysteinemia. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, vol. 21, p. 573-577, 2001.

VON ECKARDSTEIN, A; MALINOW, MR; UPSON, B; et al. Effects of age, lipoproteins, and hemostatic parameters on the role of homocyst(e)inemia as a cardiovascular risk factor in men. **Arterioscler. Thromb.**, vol. 14, p. 460-4, 1994.

WAKSMAN, R; ROBINSON, KA; CROCKER, IR; GRAVANIS, MB; CIPOLLA, GD; et al: Endovascular low-dose irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in swine: a possible role for radiation therapy in restenosis prevention. **Circulation**, vol. 91, p. 1.533-1.539, 1995.

WALL, RT; HARLAN, JM; HARKER, LA; STRIKER, GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. **Thromb. Res.**, vol. 18, p. 113-21, 1980.

WANG, J; DUDMAN, NP; WILCKEN, DE. Effects of homocysteine and related compounds on prostacyclin production by cultured human vascular endothelial cells. **Thromb. Haemost.**, vol. 70, n. 6, p. 1047-52, 1993.

WEIBULL, H; BERGQVIST, D; JONSSON, K; et al. Complications after percutaneous transluminal angioplasty in the iliac, femoral and popliteal arteries. **J. Vasc. Surg.**, vol. 5, p. 681-686, 1987.



WESTCOTT, MA; BONN, J. Comparison of conventional angioplasty with the Palmaz stent in the treatment of abdominal aortic stenosis from the STAR registry. SCVIR Transluminal Angioplasty and Revascularization. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 9, n. 2, p. 225-31, 1998.

WIEDERMANN, JG; MARBOE, C; SCHWARTZ, A; AMOLS, H; WEINBERG, J. Intracoronary irradiation reduces restenosis after balloon angioplasty in porcine model. **J. Am. Coll. Cardiol.**, vol. 23, p. 1491-1498, 1994.

WIESINGER, B; BEREGI, JP; OLIVA, VL; et al. PTFE-covered self-expanding nitinol stents for the treatment of severe iliac and femoral artery stenoses and occlusions: final results from a prospective study. **J. Endovasc. Ther.**, vol. 12, p. 240-246, 2005.

WILCKEN, DE; WILCKEN, B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. **J. Clin. Invest.**, vol. 57, p. 1079-82, 1976.

WILCZEK, K; DE SCHEERDER, I; WANG, K; et al. Comparison of self-expanding polyethylene terephthalate and metallic stents implanted in porcine iliac arteries. **Cardiovasc. Intervent. Radiol.**, vol. 19, p. 176-180, 1996.

WILSON, SE; WOLF, GL; CROSS, AP. Percutaneous transluminal angioplasty versus operation for peripheral arteriosclerosis; report of a prospective randomized trial in a selected group of patients. **J. Vasc. Surg.**, vol. 9, p. 1-9, 1989.

WHITEHEAD, AS; GALLAGHER, P; MILLS, JL; et al. A genetic defect in 5,10 methylenetetrahydrofolate reductase in neural tube defects. **Q. J. M.**, vol. 88, n. 11, p. 763-766, 1995.

WOLF, GL; WILSON, SE; CROSS, AP. Surgery or balloon angioplasty for peripheral vascular disease: a randomized clinical trial. Principal investigators and their associates of Veterans Administration Cooperative Study Number 199. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 4, p. 639-648, 1993.

WOLF, YG; GERTZ, D; BANAI, S. Animal models in syndromes of accelerated arteriosclerosis. **Ann. Vasc. Surg.**, vol. 13, n. 3, p. 328-38, 1999.

WOLFRAM, RM; BUDINSKY, AC; POKRAJAC, B; POTTER, R; MINAR, E. Vascular Brachytherapy with <sup>192</sup>Ir after femoropopliteal Stent Implantation in High-Risk Patients: Twelve-month Follow-up Results from the Vienna-5 Trial. **Radiology**, vol. 236, p. 343–351, 2005.

WOLOSKER, N; NAKANO, L; ANACLETO, MMM; PUECH-LEÃO, P. Primary utilization of stents in angioplasty of superficial femoral artery. **Vascular and Endovascular Surgery**, vol. 37, n. 4, p. 271-277, 2003.

WOLOSKER, N; NAKANO, L; ROSOKY, RA; et al. Tratamento endovascular para pacientes portadores de claudicação intermitente que não melhoram com tratamento clínico. **Clinics**, vol. 60, n. 3, p. 193-200, 2005.

WOO, KS; CHOOK, P; LOLIN, YI; et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. **Circulation**, vol. 96, n. 8, p. 2542-4, 1997.

WOODY, JD; NISHANIAN, G; KOPCHOK, GE; et al. Healing response of normal canine aorta and iliac artery to a nitinol stent encapsulated in carbon-lined ePTFE. **J. Endovasc. Ther.**, vol. 8, p. 274-281, 2001.

WUILLEMIN, WA; SOLENTHALER, M. Hyperhomocysteinemia: a risk factor for arterial and venous thrombosis. **Vasa**, vol. 28, n. 3, p. 151-5.

YEE, DC; WILLIAMS, SK; SALZMANN, DL; et al. Stent versus endovascular graft healing characteristics in the porcine iliac artery. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 9, n. 4, p. 609-17, 1998.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

O trabalho foi realizado no Centro de Pesquisas do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Os procedimentos foram realizados na Unidade de Experimentação Animal. A análise histológica dos tecidos e a análise morfométrica digital foram realizadas no Serviço de Patologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, vinculado à Universidade Federal de Rio Grande do Sul.

O projeto foi enviado à Comissão Científica e Comitê de Ética do Grupo de Pós-graduação e Pesquisa do Hospital de Clínicas de Porto Alegre para apreciação dos comemorativos éticos envolvidos no estudo. O projeto foi aprovado e autorizado pela Comissão de Ética do CP/HCPA para realização da parte experimental.

Os stents utilizados para o experimento foram do tipo auto-expansível, com 25 milímetros de comprimento e diâmetro final de oito milímetros, confeccionados com nitinol pelo Laboratório de Transformação Mecânica da Escola de Engenharia da UFRGS, com base nos stents da fábrica ELLA-CS®- Dr. Varel Volenec. Os stents foram recebidos como doação.

A adequação das medidas do stent em relação às dimensões da artéria aorta dos suínos e a sua perviedade, após o implante, foram confirmadas por angiografia, utilizando-se o aparelho de raio X da marca GE® modelo STENO V, obtida com a injeção direta de 1 ml/kg de metilgulcamina (UROMIRON®). A angiografia foi realizada na Unidade de Experimentação Animal do Centro de Pesquisa do HCPA.

### 3.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foram utilizados 18 suínos da raça Macau fornecidos pelo mesmo produtor, com idade aproximada de oito semanas, peso médio de 30 quilogramas e alimentação independente. Os animais foram divididos aleatoriamente em dois grupos denominados grupo controle (C) e grupo metionina (M) e, cada grupo foi colocado em pocilgas separadas. Os animais foram alojados em baias com água ad libitum e foram alimentados com ração para suínos, sem suplementação lipídica adicional, balanceada e adaptada para a idade. Os animais foram alimentados, desde o desmame (em torno de 40 dias), com uma quantidade de 950 g/dia de ração, durante 30 dias, para alcançar o peso desejado. A ração utilizada foi à base de cereais (75% de milho e 25% soja) para o grupo controle (grupo C).

Normalmente, é necessária na dieta suína uma quantidade de 4,6g/dia de metionina + cistina (0,48% de metionina em 950g de ração), e em torno de 8% de gordura saturada presente no leite de suínos (RED BOOK FEED INDUSTRY, 1998). Sendo assim, para obter-se uma homocisteinemia induzida, o segundo grupo recebeu a ração com adição de 3% de metionina (grupo M).

O estudo foi dividido em duas fases. Na primeira, que teve duração de 30 dias (início no dia zero até o dia 30), o grupo M foi alimentado com metionina adicionada à dieta e o grupo controle (C) alimentado com dieta normal. Amostras de sangue foram coletadas em frascos com anticoagulante através da punção da veia jugular interna de todos os animais para análise de colesterol total, colesterol HDL e triglicerídeos, para permitir a inferência que, provavelmente, estes resultados não tiveram influência no desenvolvimento da aterogênese. A dosagem da homocisteína plasmática foi realizada pelo método HPLC (CRUZ, 2000) para comprovar a homocisteinemia induzida pela alimentação com adição de metionina. As amostras foram coletadas da

seguinte maneira: a primeira no tempo zero do experimento, a segunda após trinta dias e a terceira após 60 dias.

### **3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO**

Foram incluídos todos os animais que preencherem os requisitos nos itens anteriores.

### **3.3 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO**

Os critérios de exclusão para o presente estudo foram:

1. Trombose do stent ou da porção proximal e/ou distal da aorta do suíno.
2. Infecção da ferida operatória ou dos tecidos adjacentes.
3. Reintervenção sobre a ferida operatória devido à hemorragia.
4. Óbito do animal antes do prazo estabelecido para a coleta de material para análise histopatológica.
5. Falhas técnicas no preparo ou processamento dos tecidos.

### **3.4 VARIÁVEIS EM ESTUDO**

1. Aterogênese em aorta de suínos submetidos a homocisteinemia induzida.
2. Perviedade da aorta abdominal dos suínos alimentados com dieta normal e dieta rica em metionina após o implante dos stents.
3. Expansão do stent (completa ou incompleta).

### **3.5 TÉCNICA ANESTÉSICA**

Os animais foram submetidos a um jejum alimentar de 12 horas para dieta sólida e de quatro horas para dieta líquida. A técnica utilizada foi a anestesia geral inalatória, utilizando-se um sistema fechado com reinalação (modelo HUSKY - CALGIMED®).

A anestesia do animal foi realizada contemplando-se o protocolo de anestesia geral para suínos do CP/HCPA, e a xilasina via intramuscular foi utilizada como medicação pré-anestésica cinco minutos antes de iniciar o procedimento. A via de acesso venosa utilizada para infusão de líquidos e drogas foi a veia marginal da orelha, obtida através da punção com um cateter de teflon 20G (ABBOCATH®). A anestesia parenteral foi realizada com ketamina e xilasina. A anestesia inalatória foi mantida com isoflurano 1,5%, e a reposição hídrica obtida com solução fisiológica 0,9% a 20 ml/kg/hora. A cefazolina endovenosa foi utilizada como antibiótico profilático. Foram utilizados a dipirona e tramadol para analgesia. Nenhum dos animais utilizados neste estudo recebeu medicamentos anti-agregantes plaquetários ou anticoagulantes nos períodos pré e pós-operatórios para melhor avaliação da reação da parede arterial após o implante do stent (AO, 1997).

### **3.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO**

O procedimento foi realizado da seguinte maneira: primeiramente, foi realizada uma incisão cervical à direita seguida de dissecação da artéria carótida comum direita; os animais receberam 5000U de heparina endovenosa e então foi realizada pequena arteriotomia na artéria carótida, pela qual foram introduzidos: um fio-guia 0,035", uma bainha 7F e o sistema de implante do stent; sob controle radiológico, o stent foi liberado, e implantado na porção infra-renal da aorta abdominal dos suínos. Então, foi

realizada a ligadura da artéria carótida, após ter sido retirado o sistema de implante. A heparina não foi revertida no final do procedimento. Em ambos os grupos foram realizadas angiografias de controle.

Os animais foram sacrificados 30 dias após o procedimento, mediante anestesia e eutanásia através de injeção intracardíaca de cloreto de potássio, conforme o protocolo do CP/HCPA. Após a eutanásia foram coletadas as aortas dos suínos com os stents. As artérias foram retiradas em monoblocos e irrigadas com soro fisiológico 0,9% para a realização de exame macroscópico e anatomo-patológico.

### **3.7 PREPARO DO TECIDO PARA ANÁLISE MORFOLÓGICA**

Os tecidos retirados foram fixados com solução de Aldeído Fórmico a 10% e posteriormente conservados a 4°C por 10 dias. Após a fixação do segmento ressecado, a porção infra-renal da aorta foi excisada e realizada nova macroscopia com descrição das alterações. Então, procedeu-se à secção de uma porção de tecido de um centímetro de extensão, na porção central do vaso. Os segmentos foram processados e incluídos em blocos de parafina e posteriormente submetidos a cortes histológicos medindo 4µm de espessura. As lâminas contendo os cortes de tecidos foram coradas com hematoxilina-eosina e preparadas para a avaliação morfométrica digital da parede arterial. A metodologia da quantificação do espessamento intimal foi mediante análise morfométrica digital com o programa integrado de morfometria e análise de imagem Kontron Elektronik GmbH Ks 300 (em microcomputador). Os resultados das medidas morfométricas da íntima e da média foram apresentados em números absolutos (milímetros quadrados) utilizando-se a média de oito medidas circunferenciais.



### **3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

Os resultados foram expressos por medianas (amplitudes inter-quartílicas). O teste não-paramétrico de Mann-Whitney foi usado para a comparação dos grupos em cada um dos momentos de avaliação. Para a comparação dos momentos de avaliação dentro de cada grupo, considerou-se o teste não-paramétrico de Friedman. O nível de significância considerado foi de 0,05.

#### **4 RESULTADOS**

Quatro animais foram excluídos do experimento. Dois foram sacrificados por apresentarem paraplegia devido à trombose do stent. Um animal foi a óbito devido à hemorragia intra-operatória e outro devido a infarto do miocárdio logo após o término do procedimento. Estes animais foram excluídos do estudo. Todos os stents, dos 14 animais restantes incluídos no estudo, estavam pérvios após o implante e estes resultados foram confirmados com a angiografia de controle após 30 dias. (figuras 1 e 2). Todos os 14 animais incluídos neste estudo permaneceram clinicamente sadios até o momento da eutanásia.

Figura 1 – Angiografia de controle após implante de stent em aorta abdominal de suíno demonstrando a perviedade do stent.

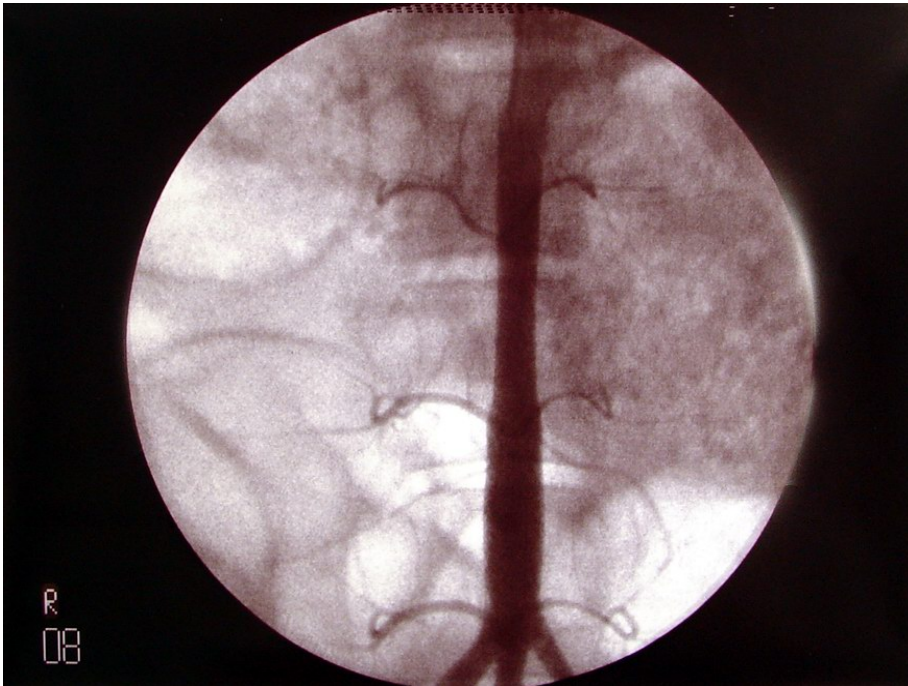
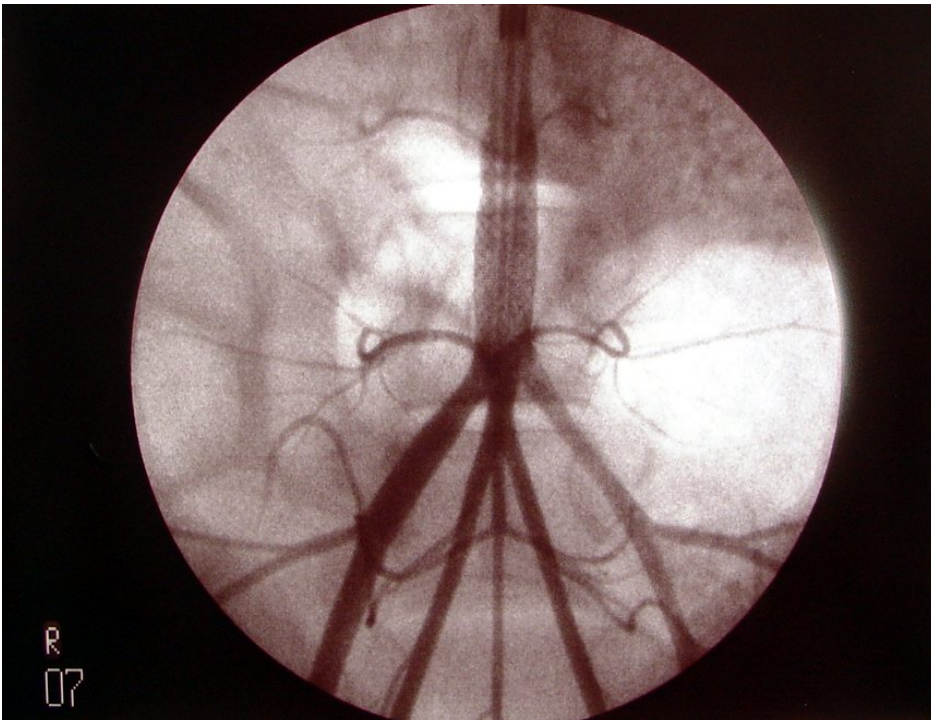


Figura 2 - Angiografia de controle após o implante de stent na aorta do suíno demonstrando perviedade dos ramos da aorta abdominal.



A macroscopia mostrou o stent bem aderido à parede da aorta e recoberto por uma camada densa de tecido cicatricial no grupo controle (figura 3) e, no grupo metionina, o stent recoberto por uma camada fina e translúcida (figura 4).

Figura 3 – Macroscopia da aorta com stent do grupo controle.

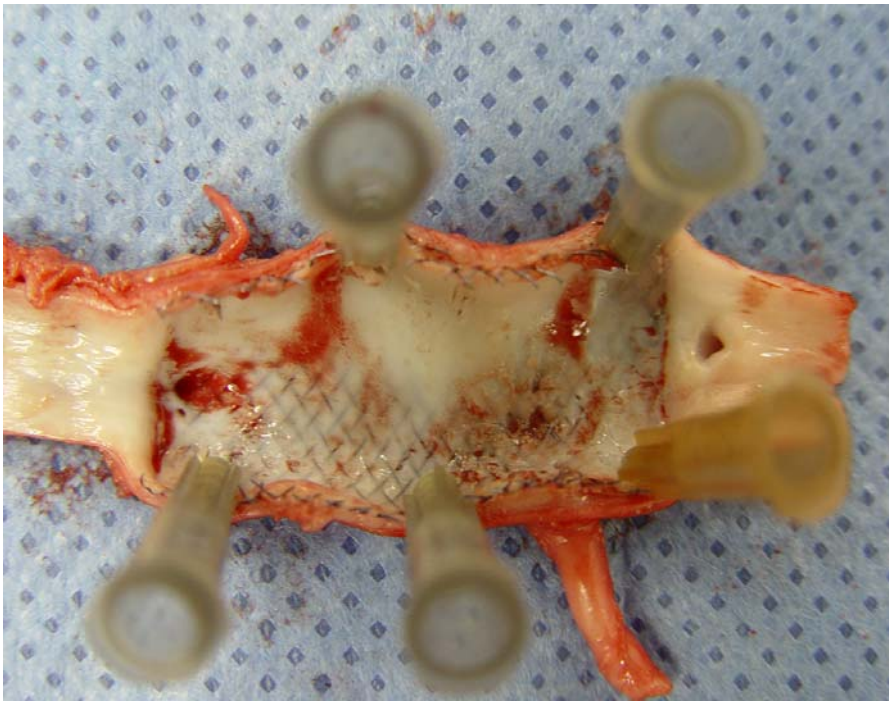
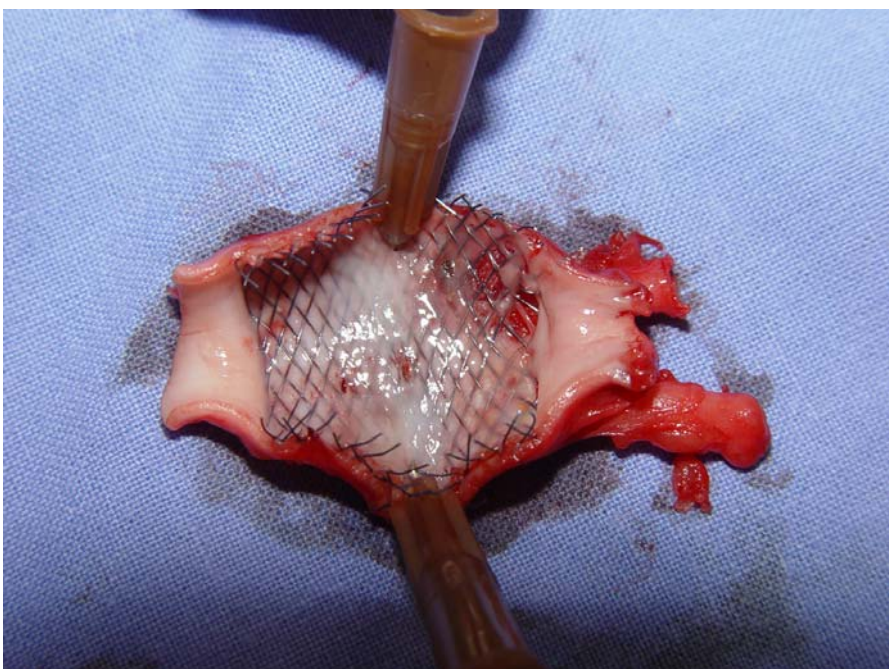


Figura 4 – Macroscopia da aorta com stent do grupo metionina.



O exame histológico mostrou intensa hiperplasia intimal no grupo controle (figura 4) e placas formadas por macrófagos espumosos com pouca hiperplasia intimal no grupo metionina (figura 5). Ocorreu ruptura da lâmina elástica e hiperplasia de células musculares lisas, que são características das lesões da parede vascular que ocorrem em suínos com hiper-homocisteinemia (ROLLAND, 1995).

Figura 5. Avaliação histológica da parede da aorta do grupo controle (a seta branca mostra a intensa hiperplasia intimal e a seta azul a haste do stent).

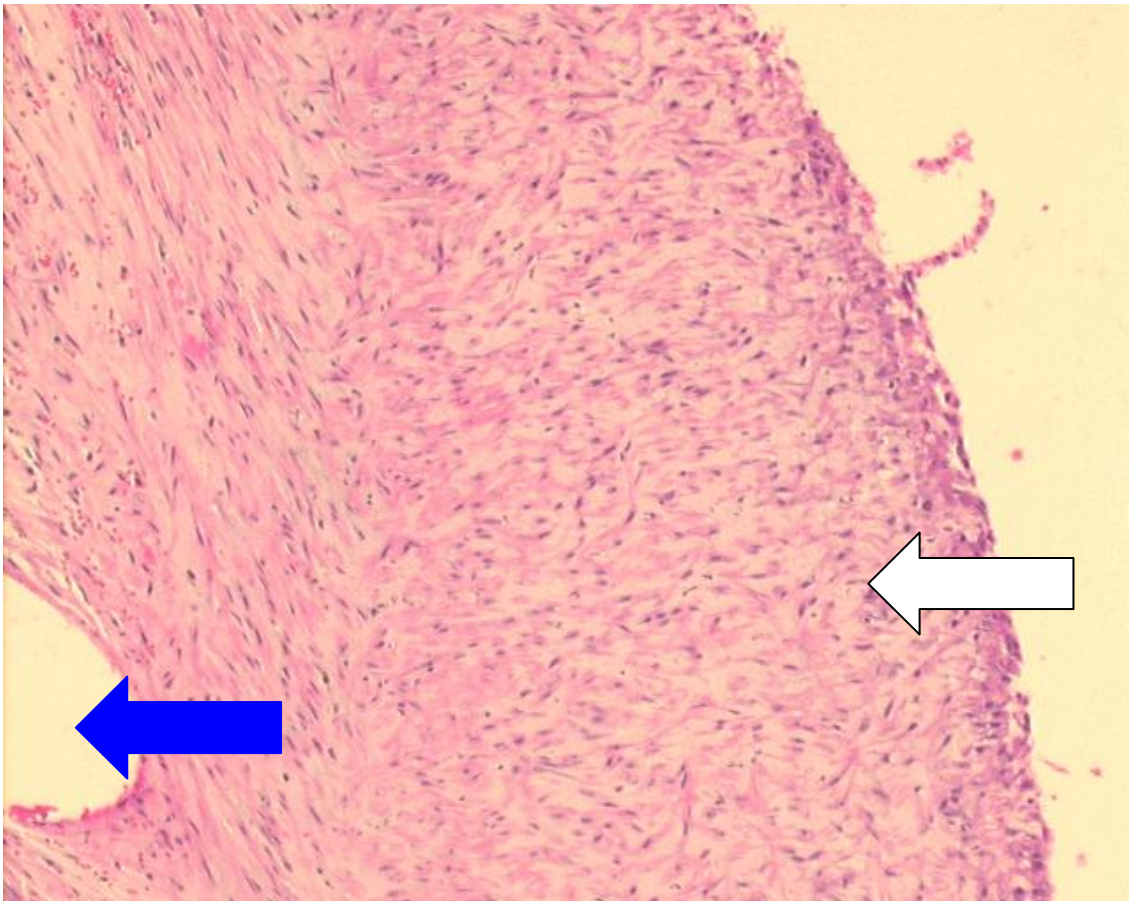
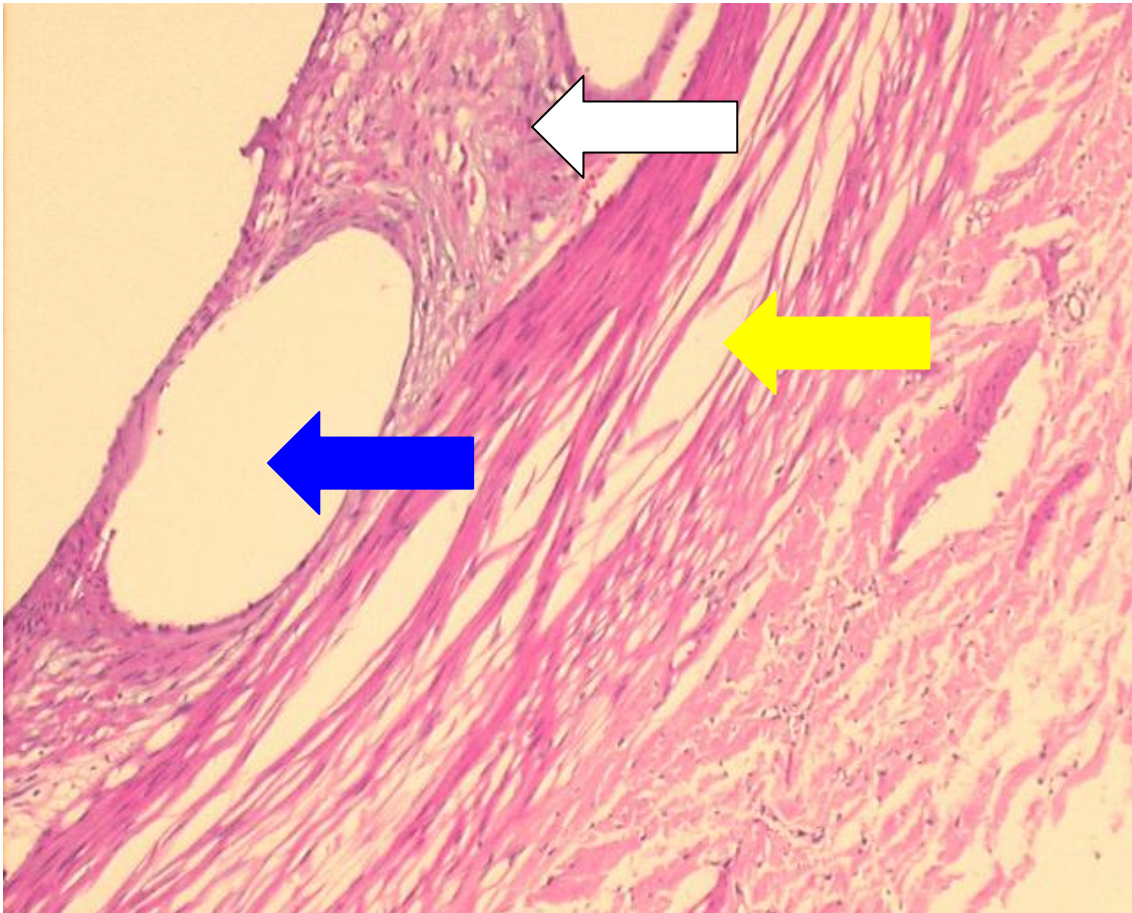


Figura 6. Avaliação histológica da parede de aorta do grupo metionina (a seta azul mostra a haste do stent, a seta branca as alterações na camada íntima e a seta amarela a camada média).



Na comparação entre os grupos com relação ao espessamento intimal, o grupo controle apresentou hiperplasia intimal mais intensa do que o grupo metionina com diferença estatística entre os grupos com nível de significância ( $p=0,0041$ ). Os resultados descritivos estão listados na tabela 1.

Tabela 1 – Análise estatística relativa à hiperplasia intimal

Grupo	n	Mediana	Amplitude interquartílica	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Valor de p
Controle	7	467,05	422,478	345,644	816,288	545,1983	202,4074	<b>0,0041</b>
Estudo	7	269,32	154,41	131,316	383,154	268,7414	86,6294	

Os níveis de triglicerídeos, colesterol total e colesterol HDL não tiveram alterações estatisticamente significativas, não tendo influência nos resultados finais deste trabalho (tabelas 2, 3 e 4).

Tabela 2 – Análise estatística dos níveis plasmáticos de colesterol total (mg/dl)

Tempo	Grupo	Mediana	Amplitude interquartílica	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Valor de p
0 dia	Controle	86	13	71	92	82,57	7,66	0,9015
	Estudo	85	6	63	111	85,86	14,01	
30 dias	Controle	85	31	71	120	90,57	17,92	0,6200
	Estudo	92	42	49	101	80,57	22,23	
60 dias	Controle	106	22	78	122	103,57	14,76	0,3829
	Estudo	92	24	70	125	96,14	17,58	

Tabela 3 – Análise estatística dos níveis plasmáticos de colesterol HDL (mg/dl)

Tempo	Grupo	Mediana	Amplitude interquartílica	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Valor de p
0 dia	Controle	38	5	31	45	37,71	4,54	0,0530
	Estudo	42	4	39	48	42,57	2,94	
30 dias	Controle	42	8	35	52	42,29	5,56	1
	Estudo	48	24	21	52	40,00	12,94	
60 dias	Controle	48	17	32	57	45,57	9,36	0,2593
	Estudo	39	9	33	46	40,43	5,00	

Tabela 4 – Análise estatística dos níveis plasmáticos de triglicerídeos (mg/dl).

Tempo	Grupo	Mediana	Amplitude interquartílica	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Valor de p
0 dia	Controle	26	10	22	34	27,57	4,79	0,2086
	Estudo	33	15	21	45	33,71	8,48	
30 dias	Controle	33	29	25	62	38,00	14,85	0,1282
	Estudo	57	68	19	118	62,29	36,65	
60 dias	Controle	33	25	19	75	40,00	18,77	0,0973
	Estudo	20	21	11	60	25,29	17,12	

Ao comparar o grupo M, que foi alimentado com uma dieta rica em metionina, com o grupo controle (C), foi encontrada uma mudança significativa dos níveis de homocisteína durante o experimento. Atualmente, não existe um nível considerado normal de homocisteína plasmática em animais de experimentação. No presente estudo foi considerado como normal a média dos níveis de homocisteína no grupo controle, os quais foram comparados com os resultados do grupo metionina (M). No grupo controle não ocorreram mudanças nos níveis de homocisteína durante as oito semanas deste estudo (valores médios: 14,40  $\mu\text{mol/l}$  no dia 0; 16,73  $\mu\text{mol/l}$  no dia 30; 16,47  $\mu\text{mol/l}$  no dia 60). No grupo M, os níveis médios de homocisteína plasmática foram 17,47  $\mu\text{mol/l}$  no dia 0, elevando-se para 59,80  $\mu\text{mol/l}$  no dia 30 e 32,74  $\mu\text{mol/l}$  no dia 60 (tabela 5). Assim, as dosagens de homocisteína plasmática no grupo M alcançaram um valor aproximadamente três vezes maior do que o grupo controle durante o período de 30 dias e este resultado foi estatisticamente significativo ( $p = 0,0006$ ).

Tabela 5 – Análise estatística dos níveis de homocisteína plasmática ( $\mu\text{mol/l}$ ).

Tempo	Grupo	Mediana	Amplitude interquartílica	Mínimo	Máximo	Média	Desvio padrão	Valor de p
0 dia	Controle	13,1	3,2	12	20	14,40	2,79	0,3829
	Estudo	16,4	10,1	10	28	17,47	6,14	
30 dias	Controle	16,1	5,4	13	24,2	16,73	3,88	<b>0,0006</b>
	Estudo	56,7	13,7	45	84,1	59,80	12,64	
60 dias	Controle	16,2	3,3	12,3	24,5	16,47	3,98	0,2086
	Estudo	29,3	36,1	13	54,7	32,74	18,48	



## 5 DISCUSSÃO

A cirurgia endovascular é uma especialidade nova e em constante avanço tecnológico. A proposta de tratar as lesões arteriais oclusivas ateroscleróticas de maneira minimamente invasiva tornou a cirurgia endovascular um campo de intensa pesquisa, que tem como foco a morfologia, a fisiologia e a patogênese das reações ocorridas após a angioplastia e o implante de stent (DOLMATCH, 2000; PALMAZ, 2002).

Os suínos e os primatas são os modelos animais que mais se assemelham ao ser humano por apresentarem lesões vasculares muito similares à fisiologia e à morfologia do homem (WOLF, 1999). As características individuais que os tornam os modelos animais mais utilizados para o estudo da aterosclerose incluem: a facilidade de indução das lesões ateroscleróticas, mediante a administração de dietas aterogênicas, e distribuição, patogênese e morfologia das lesões extremamente semelhantes à do ser humano (WOLF, 1999; NARAYANASWAMY, 2000). Na avaliação histológica, as lesões demonstram espessamento intimal focal, estrias gordurosas, depósito lipídico, células espumosas, fibrose, e, ocasionalmente, cápsulas fibromusculares (RATCLIFFE, 1971). No presente estudo, o modelo suíno foi escolhido por dois motivos: primeiro, os resultados dos experimentos do metabolismo do ácido amino-sulfúrico em suínos são os que mais se assemelham aos do homem, quando comparados com coelhos e ratos, e por que foi demonstrado que os suínos alimentados com uma dieta rica em metionina desenvolvem hiper-homocisteinemia, eventos trombóticos e lesões arteriais similares às daquelas da homocistinúria (ROLLAND, 1995); segundo, a semelhança da morfologia e fisiologia arterial do suíno com a do homem, com tendência a hipercoagulabilidade. O sistema de coagulação é um fator relevante para o desenvolvimento de hiperplasia intimal e reestenose após a angioplastia e colocação de stent (RATCLIFFE, 1971; PALMAZ, 2002), e os suínos

têm a vantagem de possuir um sistema fibrinolítico não tão ativo como o do modelo canino (NARAYANASWAMY, 2000).

A hiper-homocisteinemia é considerada fator de risco de doenças vasculares. A homocisteína e os mediadores metabólicos da via de transsulfuração da metionina são agentes causais no desenvolvimento de doenças vasculares em pacientes com hiper-homocisteinemia originada de diferentes fontes (ROLLAND, 1995; Mc CULLY, 1996). Além de favorecer a formação da placa ateromatosa em artérias elásticas e musculares, a hiper-homocisteinemia pode também causar trombose arterial e venosa, afetando vasos de qualquer diâmetro. Ainda é controverso se a normalização ou diminuição dos níveis de homocisteína plasmática terá impacto na incidência e desenvolvimento de doenças vasculares (MC CULLY, 1975; VENÂNCIO, 2004). Para MC CULLY (1996), a resposta para a questão sobre como a homocisteína afeta os processos bioquímicos das células e do tecido da parede dos vasos sanguíneos ainda é um campo de intensa pesquisa. Em 1995, ROLLAND demonstrou que porcos alimentados com dieta rica em metionina tiveram elevação da homocisteína plasmática e lesão na membrana elástica de suas artérias. STHALKE e col. (2004) demonstraram em seu trabalho que a aorta de coelhos, previamente submetidos à dieta rica em metionina, apresenta células espumosas dois meses após o início da dieta. Este estudo demonstra que em condições de elevação da homocisteína plasmática ocorrem lesões endoteliais prematuras. Para promover uma aterosclerose precoce em suínos, no presente trabalho, utilizou-se uma dieta rica em metionina por 30 dias para criar lesões na parede das artérias e estas foram similares àquelas previamente relatadas com hipertrofia de células endoteliais, hiperplasia de células musculares lisas e descolamento de lâminas elásticas (ROLLAND, 1995; STAHLKE, 2004).

A aorta abdominal do suíno tem algumas vantagens para utilização como, por exemplo, o calibre aumentado e o alto fluxo sanguíneo. Entre outras vantagens, citam-se a menor probabilidade de trombose após o implante do stent neste vaso e, também, que a presença de stent em artérias de menor calibre favorece a hiperplasia intimal (RICHTER, 1999). Foi escolhida a artéria carótida comum como acesso vascular por ser um vaso calibroso para o uso de várias bainhas, de fácil acesso e manejo e pela vantagem de poder ser realizada a ligadura após o procedimento sem causar dano ao cérebro do animal.

Os stents podem ser confeccionados em diversos materiais, como o aço inoxidável, tântalo, platina, liga de cobalto, entre outros (PALMAZ, 2002). As ligas de nitinol são de boa biocompatibilidade, com mínima deposição de trombos e resposta inflamatória, sendo esta a razão da escolha por esse metal neste estudo. Além disso, esta liga possui propriedades de memória térmica que permite ser compactado firmemente dentro de um sistema de liberação quando esfriado, para expandir rapidamente e readquirir seu formato e tamanho pré-designados após a liberação na corrente sanguínea (PALMAZ, 2002).

Em relação ao mecanismo de implante, os stents são classificados como: expansíveis por balão e auto-expansíveis (PALMAZ, 2002). MANGELL (1996) comparou a interação de stents auto-expansíveis e expansíveis por balão com a parede do vaso e a sua expansibilidade natural após o aumento do diâmetro do vaso. Os stents auto-expansíveis seguiram as mudanças de diâmetro durante a pulsação do vaso, sem afetar sua expansibilidade após 18 semanas. Estes stents mostraram boa fixação apesar de uma dilatação de 56%. Por outro lado, os stents balão-expansíveis não demonstraram movimentos pulsáteis e podem se destacar durante o aumento do diâmetro do vaso. Com base nestes resultados, optou-se pelo uso de stents auto-expansíveis no presente trabalho. HARNEK (2002) demonstrou que o implante de

stent auto-expansível de nitinol sem angioplastia transluminal percutânea (ATP) prévia resulta em menor quantidade de hiperplasia intimal quando a ATP é realizada antes do implante do stent, sugerindo resultados favoráveis para o implante direto do stent em procedimentos endovasculares específicos. SULLIVAN (2002) demonstrou que a permanência de uma lâmina elástica interna intacta é um importante fator na prevenção da hiperplasia intimal e reestenose após implante de stent em artérias ilíacas. Com base nestes dados, neste estudo, em aorta de suínos foram implantados stents sem ATP prévia.

Embora os stents previnam a retração elástica da parede do vaso pelo remodelamento geométrico positivo, estes não são inócuos ao sistema arterial. Os stents estão relacionados à formação de trombo, a reação inflamatória intensa e ao espessamento neointimal, pois, após a lesão endotelial, ocorre a exposição de elementos subintimais causando uma resposta cicatricial à lesão. A hiperplasia intimal é causa conhecida de reestenose após o implante de stent. SCHWARTZ (1998) refere que os estágios da formação da hiperplasia intimal são semelhantes, tanto em suínos como em humanos. Ao contrário da aterosclerose, a migração de células musculares lisas e a proliferação intimal são as modificações iniciais deste processo (SCHWARTZ, 1997; DOLMATCH, 2000). A hiperplasia intimal é completa em vasos sanguíneos após 28 dias. A resposta de proliferação celular alcança o máximo em três a seis meses. Esta neointima é similar à encontrada em seres humanos em termos de tamanho celular, densidade celular e apresentação histológica (RATCLIFFE, 1971; POST, 1994; SCHWARTZ, 1998; PALMAZ, 2002). Neste estudo, foi realizada a avaliação histológica da aorta dos animais 30 dias após o procedimento com resultado satisfatório e, este intervalo de tempo, também foi adotado por VERHEYE et al. (1999), que ao analisar a hiperplasia intimal presente em artérias ilíacas e carótidas de suínos, após colocação de stent, concluiu que, em um mês, a parede vaso estava completamente coberta por células endoteliais.

A dificuldade de obterem-se os mesmos resultados dos procedimentos endovasculares nos humanos em animais de laboratório reside no fato de que, no homem, estas cirurgias são realizadas em artérias com lesões ateroscleróticas pré-existentes, e nos estudos experimentais, os mesmos procedimentos são utilizados para criar uma lesão em uma artéria normal de um modelo animal (NARAYANASWAMY, 2000). Assim, os fatores que contribuem à reestenose podem ser diferentes, explicando a menor eficácia na terapêutica em séries clínicas (PALMAZ, 2002). SMET (1997) estudou a quantidade de neointima encontrada após o implante de stent em artérias periféricas com lesão pré-existente. Esta lesão foi produzida após a desnudação e também mediante um modelo de dieta de indução de aterosclerose. Este autor concluiu que a quantidade de placa presente antes do implante do stent foi um importante fator na quantidade de hiperplasia intimal depois do implante de stent. No presente estudo, foi testada a hipótese da lesão causada pela homocisteína também ser um fator de importância para aumentar a hiperplasia intimal, entretanto, o resultado encontrado foi que os animais alimentados com dieta normal tiveram hiperplasia intimal maior após o implante do stent.

A relação entre hiper-homocisteinemia e reestenose, após intervenções vasculares, permanece controversa. LAXDAL (2004) investigou a relação entre homocisteína plasmática e outras variáveis hemostáticas com a reestenose ou reoclusões, após o tratamento endovascular das lesões ateroscleróticas femoro-poplíteas acima do joelho sintomáticas, concluindo que a homocisteína plasmática não teve influência nos resultados das intervenções endovasculares. VERMEULEN et al., (2001) após comparar a morfologia da camada muscular da artéria femoral em pacientes com aterosclerose e hiper-homocisteinemia com vasos ateroscleróticos de pacientes com níveis normais de homocisteína plasmática, concluiu que a hiper-homocisteinemia está associada a um decréscimo significativo da razão entre células musculares lisas/matrix extra-celular da média de artérias femorais, sem mudanças

significativas na espessura da média. A homocisteína causa lesão direta ao endotélio, uma diminuição nos componentes que potencialmente inibem a proliferação de células musculares lisas e, também, cria um meio pró-coagulante através da modulação das vias de coagulação e fibrinólise. Alguns estudos elucidaram alguns mecanismos pelos quais a hiper-homocisteinemia pode estimular a hiperplasia intimal (MC CULLY, 1996; WOO, 1997; VERMEULEN, 2001). Por outro lado, as reações devido à elevação da homocisteína plasmática no leito vascular após a colocação de stents não foram relatadas. No presente estudo, apesar da lesão pré-existente causada pela hiper-homocisteinemia, após o implante do stent, ocorreu pouca hiperplasia intimal na parede da aorta do animal. Este é o primeiro relato de um modelo experimental de hiper-homocisteinemia e hiperplasia intimal após implante de stents em aorta de suínos. Mais estudos serão necessários para entender os mecanismos deste fenômeno.

## **6 CONCLUSÃO**

O implante de stent de nitinol auto-expansível em aorta de porcos com hiperhomocisteinemia induzida demonstrou menos hiperplasia intimal em comparação ao grupo controle no prazo de 30 dias.

## REFERÊNCIAS

AO, PY; HAWTHORNE, WJ; TAYLOR, DA; FLETCHER, JP. Optimal dose and duration of heparin for inhibition of intimal hyperplasia. **Int. Angiol.**, vol.16, p. 94-100, 1997.

CRUZ, EN; D'ALMEIDA, V; CARDIEN, LC; et al. Padronização da dosagem de homocisteína plasmática por cromatografia líquida de alta pressão e aplicação em pacientes com doença arterial coronariana. **Jornal Brasileiro de Patologia**, vol.36, n.3, p. 166-173, 2000.

DE SMET, BJGL; KUNTZ, RE; VAN DER HELM, YJ; et al. Relationship between plaque mass and neointimal hyperplasia after stent placement in Yucatan micropigs. **Radiology**, vol. 203, p. 484-488, 1997.

DOLMATCH, BL. Healing response to vascular stent-grafts. **J. Vasc. Surg.**, vol. 31, p. 1285-1289, 2000.

HARNEK, J; ZOUCAS, E; STENRAM, U; CWIKIEL, W. Insertion of self-expandable nitinol stents without previous balloon angioplasty reduces restenosis compared with PTA prior to stenting. **Cardiovasc. Interv. Radiol.**, vol. 25, p. 430-36, 2002.

LAXDAL, E; EIDE, GE; WIRSCHING, J; et al. Homocysteine levels, haemostatic risk factors and patency rates after endovascular treatment of the above-knee femoropopliteal artery. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 28, p. 410-417, 2004.

LEVY, D; KANNEL, WB. Cardiovascular risks: new insights from Framingham. **Am. Heart J.**, vol. 116, p. 266-72, 1988.



LIBBY, P; RIDKER, P; MASERI, A. Inflammation and atherosclerosis. **Circulation**, vol. 105, p. 1135-1143, 2002.

LOBATO, AC. Stents vasculares. In: LOBATO, AC. **Cirurgia Endovascular**. 1ª edição. São Paulo: Instituto de Cirurgia Vascular e Endovascular de São Paulo, 2006. p. 83-96.

MANGELL, P; MALINA, M; VOGT, K; et al. Are self-expanding stents superior to balloon-expanded in dilating aortas? An experimental study in pigs. **Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.**, vol. 12, n. 3, p. 287-94, 1996.

MCCULLY, KS; WILSON, RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 22, p. 215-27, 1975.

MCCULLY, KS. Homocysteine and vascular disease. **Nature Medicine**, vol. 2, n. 4, p. 386-9, 1996.

MOREIRA, AM. Materiais. In: CARNEVALE, FC. **Radiologia Intervencionista e Cirurgia Endovascular**. Editora Revinter, Rio de Janeiro, RJ. 2006. p. 33-55.

NEHLER, MR; TAYLOR JR., LM. Homocysteinemia as a risk factor for atherosclerosis: a review. **Cardiovasc. Surg.**, vol. 5, p. 559-67, 1997.

PALMAZ, JC; BAILEY, S; MARTON, D; SPRAGUE, E. Influence of stent design and material composition on procedure outcome. **J. Vasc. Surg.**, vol. 36, p. 1031-9, 2002.

PALMAZ, JC; SIBBITT, R; REUTER, S; et al. Expandable intraluminal graft: preliminary study. **Radiology**, vol. 156, p. 72-77, 1985.

POST, MJ; BORST, C; KUNTZ, RE. The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty: a study in the normal rabbit and hypercholesterolemic Yucatan minipig. **Circulation**, vol. 89, p. 2816-2821, 1994.

RATCLIFFE, HL; LUGINBUHL, H. The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. **Atherosclerosis**, vol. 13, p. 133-136, 1971.

**RED BOOK FEED INDUSTRY**, Moffat Publishing, Chaska, Mn., p. 64, 1998.

RICHTER, GM; PALMAZ, JC; NOELDEGE, G; TIO, F. Relationship between blood flow, thrombus, and neointima in stents. **J. Vasc. Interv. Radiol.**, vol. 10, n. 5, p. 598-604, 1999.

ROLLAND, PH; FRIGGI, A; BARLATIER, A; et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril - hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. **Circulation**, vol. 91, n. 4, p. 1161-74, 1995.

SCHWARTZ, RS. The vessel wall reaction in restenosis. **Semin. Interv. Cardiol.**, vol. 2, n. 2, p. 83-8, 1997.

SCHWARTZ, RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia and/or remodeling. **Am. J. Cardiol.**, vol. 81, n. 7A, p. 14E-17E, 1998.

SIMONI, G; GALLEANO, R; CEPPA, P; et al. Prevention of vascular intimal hyperplasia in small caliber prosthesis. **Minerva Cardioangiol.**, vol. 43, p. 205-209, 1995.

STAHLKE JR., HJ; FRANÇA, LHG; STAHLKE, PH; STAHLKE, PS. Hiper-homocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos - modelo experimental. **J. Vasc. Bras.**, vol. 3, n. 1, p. 20-30, 2004.

SULLIVAN, T.M.; AINSWORTH, S.D.; LANGAN, E.M.; et al. Effect of endovascular stent strut geometry on vascular injury, myointimal hyperplasia and restenosis. **J. Vasc. Surg.**, vol. 36, p. 143-9, 2002.

TAYLOR, LM; MONETA, G; SEXTON, GJ; et al. Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. **J. Vasc. Surg.** 1999; vol. 29, p. 8-21, 1999.

VENÂNCIO, LS; BURINI, RC; YOSHIDA, WB. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. **J. Vasc. Bras.**, vol. 3, n. 1, p. 31-7, 2004.

VERHEYE, S; SALAME, MY; ROBINSON, KA; POST, MJ; et al. Short and long-term histopathologic evaluation of stenting using a self-expanding nitinol stent in pig carotid and iliac arteries. **Cathet. Cardiovasc. Intervent.**, vol. 48, p. 316-23, 1999.

VERMEULEN, EGJ; NIESSEN, HWJ; BOGELS, M; et al. Decreased smooth muscle cell/extracellular matrix ratio of media of femoral artery in patients with atherosclerosis and hyperhomocysteinemia. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, vol. 21, p. 573-577, 2001.

WOLF, YG; GERTZ, D; BANAI, S. Animal models in syndromes of accelerated arteriosclerosis. **Ann. Vasc. Surg.**, vol. 13, p. 328-338, 1999.

WOO, KS; CHOOK, P; LOLIN, YI; et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. **Circulation**, vol. 96, n. 8, p. 2542-4, 1997.

## **ARTIGO ORIGINAL EM INGLÊS**

### **INTIMAL HYPERPLASIA AFTER STENT PLACEMENT IN HOMOCYSTEINEMIC PORCINE AORTA.**

#### **INTRODUCTION**

Treatment of peripheral vascular disease by endovascular procedures is a rapidly expanding field in the medical practice. Percutaneous transluminal angioplasty (PTA) reduces luminal stenosis by breaking plaque and expanding the disease-free portion of the arterial wall. The corresponding injury involves endothelial exposure and intimal and medial tears<sup>1</sup>. Although balloon angioplasty alone provides good results both immediately and in the long term, there is an increasing application for stents in an attempt to improve patency<sup>2,3</sup>.

Ever since Palmaz placed the first intravascular stent in 1985, stenting has become an effective procedure to treat stenosis of large-caliber vessels<sup>2</sup>. However, stenting is still considered a controversial procedure. While it is considered acceptable for aortoiliac vessels, it is still questionable for femoropopliteal or more distal vessels<sup>3</sup>. In recent years, nitinol has become the metal alloy more popular because of its thermoreactive shape-memory characteristics<sup>3</sup>, providing both flexibility and self-expansibility.

Restenosis of the treated vessel is one of the causes of clinical symptom recurrence after revascularization, and it is a common limitation on endovascular procedures, with a 30%-40% incidence within 3 – 6 months. Acute restenosis is often the result of wall spasm, in situ thrombosis or elastic recoil. Intimal hyperplasia is an important key factor in chronic restenosis<sup>1, 4</sup> and is known to promote in-stent

restenosis. In contrast to atherosclerosis, smooth muscle cell migration and intimal proliferation are critical early events in intimal hyperplasia. The main process is completed in pigs after 28 days but cell proliferation reaches its maximum by 3-6 months without further progression<sup>1, 11, 12</sup>. This neointima is similar to the one found in humans in terms of cell size, cell density and histological presentation<sup>2, 4, 12</sup>.

Important atherosclerosis risk factors were described in the Framingham study and have been further expanded and elucidated<sup>5</sup>. Such risk factors include hyperlipidemia, hypertension and diabetes, along with epidemiologic factors such as smoking, diet, stress and family history<sup>5, 6</sup>. The theory that atherosclerosis could be attributable to homocysteine was first proposed by McCully & Wilson, in 1975<sup>18</sup>. In addition to favoring atheromatous plaque formation at elastic and muscular arteries, it can also cause both arterial and venous thrombosis, affecting vessels of any diameter. It is still uncertain whether the normalization or lowering of plasma homocysteine levels will have an impact on the incidence and development of vascular diseases<sup>19</sup>. In fact, high homocysteine levels have been related to peripheral arterial disease<sup>7</sup>. Patients with hyperhomocysteinemia have pre-existing intimal hyperplasia in saphenous vein biopsies, an increase rate of vein graft stenosis and increased failure of bypass grafts<sup>8</sup>. Hyperhomocysteinemia may also be associated with accelerated disease progression<sup>8, 9</sup>. However, the effects of hyperhomocysteinemia on endovascular procedures are unknown.

The purposes of research in endovascular surgery are constantly evolving. Early studies focused on the morphology, physiology and pathogenesis of reactions produced after stent placement. Experimenting with more suitable animal models has been a constant goal and motive of much debate<sup>2, 11</sup>. Endovascular procedures in humans are performed in atherosclerotic arteries with large amounts of plaque, while in the majority of experiments the same procedures are used to create injury in normal

disease-free vessel in animal models. Contributing factors of restenosis may, therefore, be different, explaining the lack of success of many therapeutic strategies in clinical trials<sup>2, 11</sup>. Swine and primates best meet the requirements of a restenosis model and develop lesions that are, physiologically and morphologically, markedly similar to those in humans<sup>11</sup>. Our hypothesis is that after stent deployment, intimal hyperplasia in homocysteinemic pigs arteries may be greater than in normal ones. The purpose of this study is to evaluate and compare, through digital morphometry, intimal thickening of the aorta of normal and hyperhomocysteinemic pigs following placement of self-expanding nitinol stents.

## **MATERIAL AND METHODS**

The study was approved by the Ethical Committee for the Post Graduation Group at Hospital das Clínicas in Porto Alegre, Brazil. The experiment was carried out at the Research Center facilities in the referred hospital. Nitinol stents were manufactured by the Mechanical Transformation Lab of the Engineering School of the Federal University of Rio Grande do Sul (Laboratório de Transformação Mecânica da Escola de Engenharia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul) based on ELLA-CS<sup>®</sup>, Dr. Varel Volenec's stent patterns. Those stents were self-expandable, 25 mm in length and 8 mm in expanded diameter, ethylene-oxide cleansed and sterilized.

Eighteen Macau pigs were used in the study, all over eight weeks old and average weights of 30 kg. Pigs were randomized into two groups. Each group was kept separately and labeled as Group C (control group) and Group M (methionine group). Pigs in group C were fed standard pig chow and drinking water ad libitum. Pigs in group M were fed the same chow plus 3% methionine for 30 days before the day of surgery and than discontinued. The aim of this was to promote arterial lesions prior to the endovascular procedure. Animal models are difficult to obtain because they

required long maintenance periods of hyperlipemic diets administered to specific genetic breeds<sup>11, 12</sup>. To avoid such problems and to promote early atherosclerosis in pigs we used a 30-day methionine-rich diet to consistently promote arterial lesions. Such lesions were similar to those previously described by Rolland et al.<sup>13</sup>, and we had previously shown that a 30-day methionine-rich diet consistently promotes homocysteine arterial lesions in pig iliac arteries<sup>21</sup> and in rabbit aorta<sup>20</sup>.

Blood samples were collected at 0 day, 30 day and 60 day for total cholesterol, triglycerides, HDL and homocysteine concentration. Total cholesterol, triglycerides, HDL analyses were performed by enzymatic-colorimetric method. Homocysteine was determined by HPLC (high performance liquid chromatography). Homocystein levels were measured three times during 60 days (from the first day of the experiment i.e from the beginning of the diet until the 30th day i.e 30 days after the procedure).

Exclusion criteria included animal death before the time established for tissue collection, surgical complications during or after surgery, and technical features of tissue preparation or processing.

Surgical procedures.

Surgical procedure was performed at 30 day. Anesthesia was induced by intramuscular injection of xilazine. Prior to endotracheal intubation, anesthesia was increased by intravenous ketamine injection followed by orotracheal intubation, and volume-controlled ventilation using 1.5% isoflurane. No oral anticoagulant or antiplatelet therapy was used in the follow-up period to facilitate neointima formation. Postoperative pain management included intramuscular administration of Tramal (tramadol) and Dipirona (dipyrone). Antibiotic prophylaxis with IV cefazolin was administered on the day of surgery. After sterile preparation, the carotid artery was



dissected through an oblique cervical incision and a 7F sheath and 0.035 stiff guidewire were introduced. All animals received IV heparin (5000U) after the carotid sheaths were inserted. The stents were then deployed at the infra-renal abdominal aorta. After the stents were placed, angiography was performed, the carotid access site was ligated and the surgical wound was closed with resorbable suture. Thirty days later follow-up angiography and sacrifice of the animals was performed (at 60 day) and the abdominal aorta segment was removed for histological and digital morphometry analysis.

#### Histological analysis

The infra-renal portion of the aorta was removed and irrigated with a 0.9% sodium chloride solution, and vessel patency was macroscopically checked. Specimens were cut longitudinally in the segment containing the stent and transverse sections were obtained. All sections were fixed in a 10% formaldehyde solution. Transverse sections from the stent's mid-part were taken for morphometric analysis. Segments were processed and set in paraffin blocks and later submitted to histological 4 $\mu$ m thick slices for display on the microscope slides. Slides were then prepared and stained by the hematoxylin-eosin technique.

#### Morphometric analysis

Quantification methodology was employed for intimal thickening of the stents, using digital morphometric analysis based on an integrated morphometric program and image analysis (Media Cybernetics: Image Pro Plus). Images of histological sections were digitalized for morphometric analysis by conventional optical microscopy (Zeiss Microscope®, Axiostar Model), by achromatic optical plane and photo-storage tube (Sony® DXC 151 Video Camera), generating image files in a PC. Images were

digitalized with a 100-magnification microscope, and the intimal and medial areas were delimited, respectively, for the internal elastic membrane and the endothelium. Area dimensions were described in mm<sup>2</sup>, using the average of the eight microscopic fields. The external and internal elastic membranes defined the area for the medial layers, while the area limited by the internal elastic membrane and the endothelium was considered as the intimal area. The pathologist was blinded as to the group in which the animals belonged. Results were expressed as a median (interquartile range, IQR). Mann-Whitney's and Friedman's tests were used for statistical analysis between groups. Significance level was set at  $p < 0.05$ .

## **RESULTS**

Eighteen animals were initially included in the study. All except four, recovered fully between procedures. Two died of myocardial ischemia, one of carotid artery rupture during the procedure, and the other one had to be sacrificed because of paraplegia due to an occluded stent 24 hours after deployment. These four animals were excluded from the study. All the stents placed in the remaining fourteen animals were patent immediately after deployment and remained so until the follow-up angiography was performed (figures 1 and 2). All animals remained clinically healthy until sacrifice.

Macroscopic evaluation of abdominal aorta specimens demonstrated that stents were firmly attached to the aortic wall and were covered by a thin, translucent cover in Group M (figure 3). In Group C, the aortic wall was extensively covered on the luminal surface (figure 4). There were extensive intimal hyperplasia with no endothelial deposits, and a well-defined internal elastic lamina at the histological evaluation of the aortas in Group C (figure 5). The abdominal aorta in Group M showed modified endothelium cell, and the intima was formed by foam macrophages, hypertrophy

smooth muscle cells, without cholesterol crystals (figure 6). There was elastic lamina disruption and smooth muscular cell hyperplasia, characteristic of the homocysteine-induced lesions. Comparison of intimal thickening among groups showed a pronounced intimal hyperplasia in group C as compared to group M, with significant difference between groups ( $p < 0.05$  -  $p = 0.0041$  - i.e.). Results are shown in table 1.

#### Biochemical analysis

Total cholesterol, HDL and triglyceride levels in plasma analyses were performed and no significant difference was found between the two groups, evidencing that they had no influence on the final results (results are show in tables 2, 3 and 4).

Normal levels of plasma homocysteine for animal experiments have not been established so far. What we considered to be the normal level was the average of plasma homocysteine levels in Group C, to which the plasma homocysteine levels in Group M would be compared. In Group C, there was no change in homocysteine levels during the eight-week-study (average values: 14,40  $\mu\text{mol/l}$  on day 0; 16,73  $\mu\text{mol/l}$  on day 30; 16,47  $\mu\text{mol/l}$  on day 60). In group M, the average value for plasma homocysteine levels was 17,47  $\mu\text{mol/l}$  on day 0, reaching the mean values of 59,80  $\mu\text{mol/l}$  on day 30, and 32,74  $\mu\text{mol/l}$  on day 60 (table 5). Thus, plasma homocysteine in Group M reached a level approximately three times higher than in Group C during the 30-day period before surgery. Although significant hyperhomocysteinemia ( $p < 0,05$  –  $p = 0,0006$ ) was detectable after 1 month only in group M; the levels of homocystein stabilized after 2 months in both groups.

#### **DISCUSSION**

In the present study, the pig model was selected for two reasons. First, swine models are easily to induce disease by atherogenic diets and a remarkable similarity in lesion distribution, pathogenesis, and morphology with those of humans<sup>12</sup>. The pig's arterial system is prone to hypercoagulability and their fibrinolytic system is not as active as in canine model. The coagulation system is believed to be a relevant factor in neointimal hyperplasia and restenosis after balloon dilation and stent placement<sup>2, 12</sup>. Second, experiments with sulfur amino acid metabolism in this species more closely resemble the results obtained in humans; and it had previously been shown that pigs fed with a methionine-rich diet during 30 days develop hyperhomocysteinemia, thrombotic events and arterial lesions similar to those of homocystinuria<sup>13</sup>.

In 1995, Rolland et al. already observed elevated concentrations of homocysteine in plasma, and lesions at the elastic arterial membrane of pigs fed with a methionine-rich diet<sup>13</sup> and, he concluded that homocysteine and the metabolic intermediates of the methionine transsulfuration pathway are causal agents of vascular disease development in patients with hyperhomocysteinemia originating from different sources<sup>13, 19</sup>. Sthalke et al. found in their study that the aorta of rabbits fed an overload of methionine presented foam cells two months after being on that diet. That study evidences that when conditions for plasma homocysteine level elevation are favorable, premature endothelial injuries occur<sup>20</sup>. The concentrations in plasma homocysteine recorded in our study, ranging from 14,40 to 59,80  $\mu\text{mol/L}$ , are of the same kind as levels found in patients with hyperhomocysteinemia and are thought to contribute to their premature vascular disease<sup>7, 8, 9, 18</sup>. In addition, hyperhomocysteinemia developed in the animals without significant changes in serum lipid profile reflect that there was no interference of hypercholesterolemia. Our findings reproduce the situation encountered in young homocysteinemic patients whose serum lipid profiles usually do not reveal hypercholesterolemia and in whom atherosclerotic lesions contain little or no evidence of accumulated lipid core. The present study results in experimental

hyperhomocysteinemic pigs, therefore, are in accordance with the conclusions that homocysteinemia could represent a nonlipid model for the initiation of atherosclerosis.

In our study, all stents remained patent after 30 days. A pig's abdominal aorta has some positive features that make it suitable for experimenting, such as size and high flow. The pig aortas used in our experiment were, on average, 8 mm in diameter. There are advantages in handling a vessel of such diameter when implanting stents, since arteries with a high flow are less likely to present thrombosis and stents implanted in low flow arteries are more prone to intimal hyperplasia<sup>25</sup>.

Although stents seem to prevent the elastic retraction by means of positive geometric remodeling, they are not innocuous to the arterial system. Stents can be related to thrombus formation, higher inflammatory reaction and neointima thickening due to the fact that the endothelial lesion exposes the subintimal elements, causing a cicatricial answer to injury<sup>1</sup>. The reason we choose nitinol stents is related to its good biocompatibility, with minimal thrombus deposition or inflammatory response<sup>2</sup>. Mangell studied stent/vessel interaction and distensibility following the natural increase in vascular diameter using self-expanding and balloon-expanded stents. Self-expanding stents follow the pulsatile diameter change of the vessel wall, not adversely affecting distensibility after 18 weeks. There was a good attachment rate despite a 56% dilation. In contrast, balloon-expanded stents have no pulsatile movement and may detach when the vessel diameter increases<sup>14</sup>. Harnek found that insertion of a self-expandable nitinol stent without previous percutaneous balloon angioplasty (PTA) results in less intimal hyperplasia than if PTA is performed prior to stenting, which suggests that direct stenting can be used in angioplasty sessions with a favorable outcome<sup>16</sup>. Sullivan found that maintenance of an intact internal elastic lamina is an important factor for prevention of intimal hyperplasia and restenosis in stented iliac arteries<sup>17</sup>. Based in

these results, we choose to implant self-expandable stent without previous PTA in our study.

Intimal hyperplasia is the key point in this study. Schwartz states that the phases of neointimal formation may be similar to humans in the pig model<sup>25, 26</sup>. The major limitation of the animal models is the lack of pre-existing disease of the vascular wall, like atherosclerosis in humans<sup>11</sup>. However, it seems that the findings related to the intimal hyperplasia after stent implantation in experimental animals maintained on an atherogenic diet were not different when compared a normal to a stenotic artery<sup>11, 25, 26</sup>. Obtaining histological slices after four weeks seems to be sufficient for studies of intimal thickening. The reaction to a lesion in the pig experimental model led to the formation of neointimal hyperplasia in one or two weeks, and the process is complete in twenty-eight days. In terms of histology, size and cellular density this is similar to what happens in humans<sup>1, 4, 11, 12, 13, 14</sup>. Verheye et al., after implanting stents in the iliac and carotid arteries of pigs, conducted histological studies of one to six months, stating that within one month the vascular wall was completely covered by endothelial-type cells<sup>27</sup>. Like these authors, we studied the intimal thickening of the vessel wall in a time interval of 30 days, after the stent implant, to analyze the arterial wall alterations. Smet et al. studied the amount of neointima found after stent placement in pre-existent plaque mass in the peripheral arteries of micropigs. The plaque formation was achieved after exposure to a diet-induced atherosclerosis. He concluded that the amount of plaque present before stent placement was a determinant of the amount of intimal hyperplasia present after stent placement<sup>15</sup>. In contrast, in the present study, the pre-existent lesion caused by hyperhomocysteinemia did not enhanced intimal hyperplasia.

The relationship between hyperhomocysteinemia and restenosis after peripheral vascular intervention remains controversial. Laxdal et al. investigated the

relationship between plasma homocysteine and other haemostatic variables, and restenosis or reocclusion after endovascular treatment of symptomatic atherosclerosis of the femoropopliteal artery above the knee and found that plasma homocysteine did not appear to influence endovascular intervention outcomes<sup>22</sup>. Vermeulen et al., after comparing the morphology of the muscular femoral artery in atherosclerosis and hyperhomocysteinemia patients to atherosclerotic vessels from normal homocysteine level patients, concluded that hyperhomocysteinemia is associated with a significant decrease of the smooth muscle cell/extracellular matrix ratio of the media of muscular femoral arteries, without significant changes in medial thickness<sup>23</sup>. Homocysteine has been found to cause direct damage to the endothelium, a decrease in compounds potentially inhibiting vascular smooth muscle proliferation, and to create a procoagulant milieu by modulating the coagulation and fibrinolytic pathway. Some studies elucidated several potential mechanisms by which hyperhomocysteinemia may stimulate myointimal hyperplasia<sup>19, 23, 24</sup>. On the other hand, no elevated plasma homocysteine responses after stent placement in the peripheral vascular bed have been reported. In our study, besides the preexisting lesions caused by hyperhomocysteinemia, no significant intimal hyperplasia was observed. This is the first report of a hyperhomocysteinemia and intimal hyperplasia experimental model after stent placement in pigs' aorta. We can only speculate about our findings. Perhaps, as Vermeulen et al. concluded, some mechanism that lowers the smooth muscle cells/extracellular matrix ratio together is acting. With respect to homocysteine toxicity against vascular cells, maybe priming of vascular cells by homocysteine results in release of cytokines and/or growth factors by the injured cells, as is the case after balloon-induced vascular injury. Specifically, smooth muscle cell activation and replication in the media may be driven by basic fibroblast growth factor released by injured medial cells, although other unknown growth factors may also be involved. The similarities between homocysteine and balloon injury-induced alterations of the vascular wall will serve as a framework for a working hypothesis to elucidate the

mechanisms accounting for the vascular consequences of hiperhomocysteinemia. Further studies are required to understand these findings.

## **CONCLUSION**

Insertion of self-expandable nitinol stent in pig's aorta after 30 days with a methionine-rich diet results in less intimal hyperplasia as compared to normal pigs.

## **REFERENCES**

1. Dolmatch, BL. Healing response to vascular stent-grafts. *J Vasc Surg* 2000; 31: 1285-1289.
2. Palmaz, JC; Bailey, S; Marton, D; Sprague, E. Influence of stent design and material composition on procedure outcome. *J Vasc Surg* 2002; 36: 1031-9.
3. Palmaz, JC; Sibbitt, R; Reuter, S; Tio, FO; Rice, WJ. Expandable intraluminal graft: preliminary study. Work in progress. *Radiology* 1985; 156 (1): 73-77.
4. Post, MJ; Borst, C; Kuntz, RE. The relative importance of arterial remodeling compared with intimal hyperplasia in lumen renarrowing after balloon angioplasty: a study in the normal rabbit and hypercholesterolemic Yucatan minipig. *Circulation* 1994; 89: 2816-2821.
5. Levy D, Kannel WB. Cardiovascular risks: new insights from Framingham. *Am Heart J* 1988; 116: 266-72.



6. Libby, P; Ridker, P; Maseri, A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002; 105: 1135-1143.
7. Nehler, MR; Taylor Jr., LM. Homocysteinemia as a risk factor for atherosclerosis: a review. *Cardiovasc Surg* 1997; 5: 559-67.
8. Taylor, LM; Moneta, G; Sexton, GJ; Schuff, RA; Porter, JM. Prospective blinded study of the relationship between plasma homocysteine and progression of symptomatic peripheral arterial disease. *J Vasc Surg* 1999; 29: 8-21.
9. Venâncio, LS; Burini, RC; Yoshida, WB. Hiper-homocisteinemia na doença arterial periférica. *J Vasc Bras* 2004; 3(1): 31-7.
10. Simoni, G; Galleano, R; Ceppa, P; Desalvo, P; Cariati, P; Baccini, P; et al. Prevention of vascular intimal hyperplasia in small caliber prosthesis. *Minerva Cardioangiol* 1995; 43 (5): 205-209.
11. Wolf, YG; Gertz, D; Banai, S. Animal models in syndromes of accelerated arteriosclerosis. *Ann Vasc Surg* 1999; 13: 328-338.
12. Ratcliffe, HL; Luginbuhl, H. The domestic pig: a model for experimental atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1971; 13:133–136.
13. Rolland, PH; Friggi, A; Barlatier, A; Piquet, P; Latrille, V; Faye, MM; et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig. Captopril - hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995; 91(4): 1161-74.

14. Mangell, P; Malina, M; Vogt, K; Lindh, M; Schroeder, T; Risberg, B; et al. Are self-expanding stents superior to balloon-expanded in dilating aortas? An experimental study in pigs. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 1996; 12(3):287-94.
15. de Smet, BJ; Kuntz, RE; van der Helm, YJ; Pasterkamp, G; Borst, C; Post, MJ. Relationship between plaque mass and neointimal hyperplasia after stent placement in Yucatan micropigs. *Radiology* 1997; 203: 484-488.
16. Harnek, J; Zoucas, E; Stenram, U; Cwikiel, W. Insertion of self-expandable nitinol stents without previous balloon angioplasty reduces restenosis compared with PTA prior to stenting. *Cardiovasc Interv Radiol* 2002; 25: 430-36.
17. Sullivan, T.M.; Ainsworth, S.D.; Langan, E.M.; Taylor, S; Snyder, B; Cull, D; et al. Effect of endovascular stent strut geometry on vascular injury, myointimal hyperplasia and restenosis. *J Vasc Surg* 2002; 36: 143-9.
18. McCully, KS, Wilson, RB. Homocysteine theory of arteriosclerosis. *Atherosclerosis* 1975; 22: 215-27.
19. McCully, KS. Homocysteine and vascular disease. *Nature Medicine* 1996; 2(4): 386-9.
20. Stahlke Jr., HJ; França, LHG; Stahlke, PH; Stahlke, PS. Hiper-homocisteinemia causando aterogênese na aorta de coelhos - modelo experimental. *J Vasc Bras* 2004; 3(1): 20-30.

21. França, LHG; Pereira, AH; Perini, SC; Aveline, CC; Argenta, R; Mollerke, RO; et al. Aterogênese em artéria ilíaca comum de suínos submetidos a homocisteinemia induzida pela ingesta de metionina. *J Vasc Bras* 2006; 5(1): 11-6.
22. Laxdal, E; Eide, GE; Wirsching, J; Jenssen, GL; Jonung, T; Pedersen, G; et al. Homocysteine levels, haemostatic risk factors and patency rates after endovascular treatment of the above-knee femoro-popliteal artery. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2004; 28 (4): 410-417.
23. Vermeulen, EGJ; Niessen, HWJ; Bogels, M; Stehouwer, CD; Rauwerda, JA; vanHinsbergh, VW. Decreased smooth muscle cell/extracellular matrix ratio of media of femoral artery in patients with atherosclerosis and hyperhomocysteinemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 573-577.
24. Woo, KS; Chook, P; Lolin, YI; Cheung, AS; Chan, LT; Sun, YY; et al. Hyperhomocyst(e)inemia is a risk factor for arterial endothelial dysfunction in humans. *Circulation* 1997; 96(8): 2542-4.
25. Richter, GM; Palmaz, JC; Noeldge, G; Tio, F. Relationship between blood flow, thrombus, and neointima in stents. *J Vasc Interv Radiol* 1999; 10(5): 598-604.
26. Schwartz, RS. The vessel wall reaction in restenosis. *Semin Interv Cardiol* 1997; 2 (2): 83-8.
27. Schwartz, RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia and/or remodeling. *Am J Cardiol* 1998; 81 (7A): 14E-17E.

28. Verheye, S; Salame, MY; Robinson, KA; Post, MJ; et al. Short and long-term histopathologic evaluation of stenting using a self-expanding nitinol stent in pig carotid and iliac arteries. *Cathet Cardiovasc Intervent* 1999; 48: 316-23.

#### LEGENDS OF FIGURES

Figures 1 and 2. Angiography after stent deployment in pig aorta.

Figure 3. Macroscopic view of stent in pig aorta in control group

Figure 4. Macroscopic view of stent in pig aorta in methionine group

Figure 5. Histological evaluation of aortas in control group. The intima was thin, showing no endothelial deposits, a well-defined internal elastic lamina and no inflammatory cells (blue arrow).

Figure 6. Histological evaluation of aortas in the methionine group. Modified endothelial cells, with foam macrophages (blue arrow) were present in all specimens. No smooth muscle cells, cholesterol crystals or inflammatory cells were observed at the intima. There was elastic lamina disruption (yellow arrow) and smooth muscle cell hyperplasia, characteristic of the homocysteine-induced lesions.

#### LEGENDS OF TABLES

Table 1 – Intimal thickening statistical analysis.

Table 2 - Total cholesterol levels (mg/dl)

Table 3 – HDL levels (mg/dl)

Table 4 – Triglyceride levels in plasma (mg/dl)

Table 5 – Homocysteine levels in plasma ( $\mu\text{mol/L}$ )

**ANEXO**