

## Estudos Pré-Clínicos para Avaliação de Stents Farmacológicos: Uma Visão em Alta Resolução

Daniel Chamié<sup>1</sup>, Guilherme Attizzani<sup>1</sup>

Ver artigo relacionado  
na página 138

*À luz certa, no momento exato, tudo é extraordinário.  
(Aaron Rose)*

Nesta edição da **Revista Brasileira de Cardiologia Invasiva**, Takimura et al.<sup>1</sup> apresentam um estudo pré-clínico com a utilização de imagens de tomografia de coerência óptica (TCO) para avaliação do novo stent farmacológico (SF) Inspiron™ (Scitech Produtos Médicos Ltda., Goiânia, Brasil) em comparação com o stent BioMatrix™ (Biosensors International, Cingapura). A avaliação foi conduzida em modelo animal, utilizando-se porcos isentos de doença aterosclerótica.

O tratamento das doenças cardiovasculares tem avançado de maneira acelerada nas últimas décadas, fato particularmente evidente na cardiologia intervencionista, com quantidade incontável de novos dispositivos aprovados e outros tantos em avaliação. Estudos pré-clínicos são fundamentais no processo de desenvolvimento e avaliação de novos dispositivos, além de representarem exigência das agências reguladoras durante o processo que visa à verificação de sua segurança antes da aplicação em seres humanos. Entretanto, alguns aspectos devem ser levados em consideração na condução e interpretação desses estudos para avaliação de dispositivos cardiovasculares: 1) o objetivo primário é a demonstração de factibilidade e segurança da aplicação do novo dispositivo *in vivo* (a demonstração de eficácia é considerada um importante desfecho secundário, embora seja frequentemente proposta como justificativa principal do estudo); 2) quando a avaliação de eficácia é considerada, deve haver cautela na escolha do grupo controle, de forma a efetivar uma comparação que permita potencial transferência dos resultados para o cenário clínico; 3) deve ser selecionado número adequado de animais, levando-se em consideração potenciais óbitos e heterogeneidade de efeitos do dispositivo testado; 4) deve-se sempre ter em mente que nenhum modelo animal reflete a fisiopatologia da doença aterosclerótica em humanos (os modelos suínos e de artérias ilíacas de coelhos ainda são os modelos preconizados pelo órgão americano Food and Drug Administration – FDA, para avaliação de SFs); e 5) imagem dos stents com ultrassom intracoronário (USIC) em um subgrupo de animais tem sido recomendada no sentido de complementar os dados histológicos, com foco na avaliação de malaposições, formação neointimal e efeitos de borda.<sup>2,3</sup>

A apresentação dos resultados do primeiro SF desenvolvido no Brasil gera grande expectativa e reflete o avanço tecnológico de nosso País, com a utilização de conceitos avançados e componentes de alta qualidade, na difícil tarefa de encontrar o equilíbrio entre segurança e eficácia: plataforma de cromo-cobalto, com hastes de fina espessura, polímero totalmente absorvível aplicado apenas na face abluminal das hastes do stent, e um fármaco antiproliferativo extensamente estudado e de potência consagrada. A escolha do stent BioMatrix™ para o braço controle do estudo mostra o cuidado em selecionar uma tecnologia de nova geração, já aprovada para uso comercial nos mercados europeu, asiático e brasileiro, e que possui características semelhantes às do stent avaliado.

É interessante observar que, no estudo de Takimura et al.<sup>1</sup>, os autores incorporaram o uso de imagens de alta resolução, obtidas por TCO, para efetivação da pesquisa dos desfechos de eficácia e segurança, anunciando uma nova era nos estudos pré-clínicos de avaliação de novos SFs, e motivo de destaque do presente editorial.

De forma simplista, a TCO é considerada por muitos como análoga óptica ao USIC. Emite um feixe óptico

<sup>1</sup> University Hospitals – Harrington-McLaughlin Heart & Vascular Institute – Cleveland, Estados Unidos.

**Correspondência:** Daniel Chamié. University Hospitals – Harrington-McLaughlin Heart & Vascular Institute – 11100 Euclid Avenue – Mailstop Lakeside 5038 – Cleveland, Ohio, USA.

E-mail: daniel.chamie@uhhospitals.org

Recebido em: 1º/6/2011 • Aceito em: 4/6/2011

em direção ao tecido de interesse e detecta a intensidade dos sinais luminosos, que retornam por dispersão retrógrada das microestruturas teciduais. A imagem é formada pela mensuração do tempo transcorrido entre a emissão da luz e seu retorno à lente emissora. Os sistemas de TCO para uso intravascular utilizam feixes luminosos com bandas próximas ao espectro infravermelho e comprimento de onda central de aproximadamente 1.300 nm, tornando sua penetração tecidual limitada entre 1 mm e 3 mm, e inferior àquela fornecida peloUSIC (4 mm a 8 mm). Por outro lado, sua resolução axial varia de 10 µm a 15 µm, representando incremento de cerca de 10 vezes em comparação à resolução alcançada peloUSIC (100 µm a 150 µm). Sua resolução lateral é caracteristicamente de 20 µm a 90 µm, enquanto a doUSIC varia de 150 µm a 300 µm.<sup>4,5</sup> Essas propriedades conferem à TCO capacidade de fornecer imagens micrométricas da estrutura vascular, prerrogativa até então exclusiva da histologia convencional.

Stents não-farmacológicos (SNFs) costumam desenvolver uma cobertura circunferencial de tecido neointimal com espessura média de 500 µm (perda tardia de cerca de 1 mm), facilmente detectada por meio de angiografia eUSIC.<sup>4</sup> Com o objetivo de evitar a reestenose, os SFs atrasam e até mesmo previnem a resposta hiperplásica de forma tão intensa que suas hastes frequentemente são cobertas por finas camadas de tecido, com espessura bem abaixo dos limites de detecção doUSIC. Além disso, estudos de necropsia têm identificado a relação entre hastes desnudas/total de hastes analisadas como preditor morfológico mais robusto para ocorrência de trombose de SFs de primeira geração.<sup>6</sup> Em função de sua alta resolução, a TCO mostrou-se mais sensível e acurada que oUSIC em identificar cobertura e malaposição das hastes,<sup>7-9</sup> exibindo boa correlação com a histologia<sup>9-12</sup> e alta reprodutibilidade.<sup>11,12</sup> Dessa forma, a TCO oferece uma oportunidade única para avaliação, *in vivo*, da complexa interação stent-vaso, permitindo determinação acurada do estado de aposição e cobertura de cada haste individualmente, caminhando no sentido de tornar-se a modalidade de imagem padrão para avaliação da resposta vascular ao implante de stents.<sup>13</sup>

No estudo de Takimura et al.<sup>1</sup>, a TCO foi utilizada para quantificação da neointima, considerando a avaliação de apenas três imagens de seção transversa de cada stent. Utilizando essa metodologia, os autores não encontraram diferenças significativas no que se refere às áreas de tecido neointimal (1,61 ± 0,57 mm<sup>2</sup> vs. 1,36 ± 0,66 mm<sup>2</sup>; P = 0,467) e à “área porcentual neointimal” (31 ± 14% vs. 23 ± 10%; P = 0,212) entre os stents Inspiron™ e BioMatrix™. Os autores quantificaram, ainda, a presença de hastes em malaposição, a intervalos de 1 mm, pela “...visibilização de haste com uma distância da parede do vaso maior que a espessura total do stent... informada pelo fabricante...”. Utilizando esses critérios, 6 hastes foram classificadas como em malaposição (4 no stent Inspiron™ e 2 no BioMatrix™).

Esses resultados devem ser interpretados com cautela e alguns aspectos merecem ser discutidos. É importante que o leitor não confunda os resultados de área/volume neointimal com cobertura das hastes. A quantificação de área e volume de neointima deriva da análise global da seção transversa do stent, seguindo princípios semelhantes aos utilizados nas análises deUSIC. A avaliação de cobertura representa uma análise qualitativa da presença de tecido recoberto cada haste identificada em cada seção transversa ao longo do stent, e não foi realizada no estudo em questão. Esse tecido pode ser ainda quantificado e reportado como espessura neointimal. Embora a cobertura das hastes ocorra como consequência da formação neointimal, ressaltamos que a mensuração das áreas/volume de neointima não captura eventual distribuição heterogênea do tecido, e uma mesma seção transversa do stent pode conter hastes cobertas e desnudas, independentemente da quantidade de tecido neointimal. Além da avaliação morfológica, a TCO também mostrou-se capaz de identificar diferenças qualitativas de neointima<sup>14-17</sup>, presença de neovascularização<sup>14,15</sup> e boa capacidade em discriminar fibrina e tecido neointimal<sup>18</sup>, informações que podem ser de grande utilidade em estudos pré-clínicos, complementando de forma importante os achados histológicos.

Na avaliação de imagens de TCO, os conceitos utilizados para a determinação do grau de aposição das hastes são os mesmos empregados para aposição de stents comUSIC, embora a forma de mensuração apresente algumas particularidades. Uma haste é considerada aposta sempre que em contato com a parede do vaso. Hastes separadas da parede vascular, e que não estejam posicionadas sobre uma área de bifurcação, são consideradas em malaposição. Portanto, todas as hastes julgadas como cobertas por tecido neointimal são, naturalmente, classificadas como apostas. Para as hastes classificadas como não cobertas, seu estado de aposição é determinado pela mensuração da distância dessa haste até o contorno luminal. Dessa forma, depreende-se que a determinação do estado de malaposição de uma haste depende de avaliação quantitativa, precedida por uma análise qualitativa da presença de cobertura tecidual. Causa confusão o fato de os autores relatarem o número de hastes em malaposição para cada stent (embora a distância de malaposição não tenha sido reportada) sem apresentar os dados acerca de cobertura.

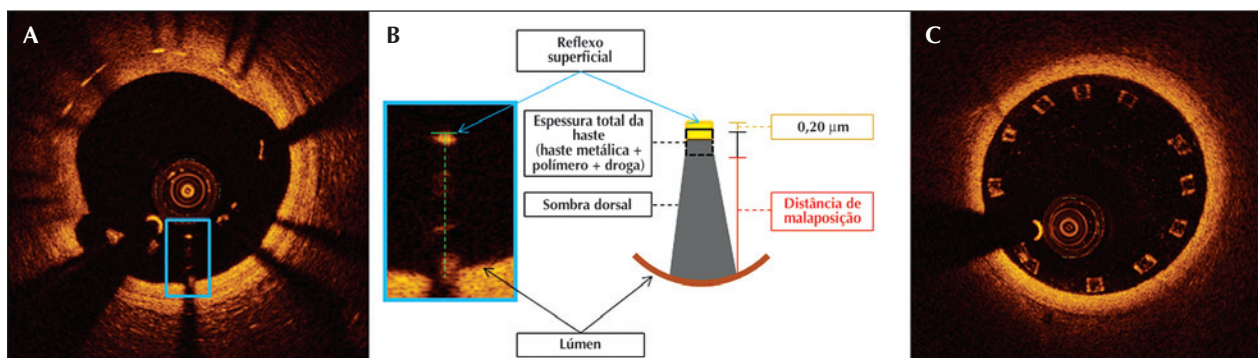
A metodologia de avaliação da malaposição de hastes pela TCO não é uniforme, e, frequentemente, é motivo de dúvida. Para melhor compreensão desse método, é importante ter em mente que as hastes metálicas refletem toda a luz que incide sobre sua superfície. Esse fenômeno de reflexão especular produz um hipersinal único, que aparece à TCO como um brilho (*blooming*) intenso seguido por uma sombra dorsal, consequência da incapacidade da luz em atravessar superfícies metálicas. Portanto, o “corpo” da haste fica “escondido” sob sua sombra, só sendo possível identificar a superfície luminal da haste, cuja

posição real fica “escondida” no meio do *blooming*. Portanto, para determinação do estado de aposição, utiliza-se a distância da superfície da haste até o contorno luminal. Quando essa distância é maior que a espessura total da haste (haste metálica + espessura do polímero + fármaco), a mesma é classificada como em malaposição. Embora outros grupos tenham reportado o contrário<sup>19</sup>, a identificação exata do centro do *blooming* (localização real da superfície da haste) pode ser difícil e sujeita a variabilidade. Por esse motivo, medimos a distância da superfície do *blooming* até o contorno luminal. Como deliberadamente incluímos o *blooming* em nossa mensuração, para determinarmos o estado de aposição da haste é preciso levar em consideração sua espessura total (espessura da haste metálica + espessura do polímero + fármaco) acrescida de um fator de correção de 20  $\mu\text{m}$ , que corrige para a real localização da superfície da haste, descontando metade do *blooming*. Portanto, quando a distância da superfície do *blooming* até o contorno luminal for superior à somatória da espessura total da haste com o fator de correção, a haste é considerada em malaposição (Figura). O fator de correção é derivado de uma análise prévia realizada em nosso laboratório de 2.250 hastes provenientes de diferentes tipos de stents, reduzindo sobremaneira a variabilidade, e apresentando alta concordância interobservador ( $R = 0,997$ ).<sup>20</sup>

Os equipamentos de TCO adquirem sequências longitudinais com grande quantidade de imagens de seção transversa do vaso estudado, fornecendo grande número de informações para avaliação. Por conseguinte, dependendo do intervalo escolhido, o tempo dedicado para análise pode ser bastante demorado. Na maioria dos estudos com TCO para avaliação de

stents, as análises são usualmente realizadas em intervalos entre as seções transversas de 0,5 mm a 1 mm. Verificamos que tais intervalos podem ser adequados para análise de áreas na seção transversa, com baixa variabilidade. No entanto, pequenos intervalos de análise são altamente recomendados para a avaliação do estado de cobertura das hastes e de malaposição, uma vez que grandes variações foram observadas quando intervalos maiores foram utilizados.<sup>21</sup> Portanto, a seleção de apenas três imagens de seção transversa para quantificação das áreas de neointima, conforme realizado no estudo de Takimura et al.<sup>1</sup>, é altamente sujeita a variabilidade e não permite capturar eventuais heterogeneidades na distribuição do tecido neointimal ao longo do stent. Da mesma forma, o “porcentual neointimal” calculado nesse estudo, que visa à determinação do porcentual de área do stent obstruído por tecido neointimal naquela seção transversa, também não traduz o impacto real que a quantidade de neointima possa estar exercendo longitudinalmente sobre a patência do stent. Ademais, as regiões de maior obstrução pelo tecido neointimal podem ter sido ignoradas.

Já foi bem demonstrado que, em modelo suíno, o pico de formação de tecido neointimal após implante de SNF acontece por volta de um mês após o procedimento, com cerca de 25% de regressão nos três a seis meses subsequentes. No entanto, essa sequência previsível de injúria e reparo arterial pode ser significativamente alterada quando polímeros e fármacos antiproliferativos são adicionados às hastes metálicas.<sup>22</sup> Portanto, as diretrizes atuais para avaliação pré-clínica de SFs recomendam uma análise precoce (3 dias a 7 dias) para auxiliar na determinação do risco de trombose subaguda, uma avaliação aos 28 dias para observação



**Figura 1** - Avaliação de malaposição das hastes de stent pela tomografia de coerência óptica (TCO). Exemplo de malaposição de hastes no seguimento de seis meses após implante de stent. Em A, observa-se heterogeneidade da cobertura neointimal, com presença de hastes em malaposição de três a sete horas. Em B, magnificação de uma única haste selecionada do painel A para demonstração da metodologia de análise de malaposição. À TCO, a haste do stent apresenta-se como intenso brilho superficial (*blooming*) com uma sombra dorsal, consequência da incapacidade da luz em atravessar a estrutura metálica produzindo um fenômeno de reflexão especular. Percebe-se que a superfície luminal da haste, na verdade, se encontra no centro do *blooming*, e a identificação desse local pode ser imprecisa e sujeita a alta variabilidade. Por esse motivo, para determinação do estado de aposição da haste, deliberadamente medimos a distância da superfície do *blooming* até o contorno luminal (linha verde pontilhada). Caso essa medida seja maior que a somatória da espessura total da haste (haste + polímero + droga) com o fator de correção para metade da espessura do *blooming* (amarelo), a haste é classificada como em malaposição, e a diferença dessa medida caracteriza a distância de malaposição (vermelho). Em C, exemplo de uma seção transversal de stent polimérico bioabsorvível. Observa-se que a estrutura polimérica não reflete significativamente a luz incidente, não produzindo o *blooming* e a sombra dorsal característicos das hastes metálicas, facilitando sobremaneira a determinação de seu estado de aposição.

da formação neointimal, e pelo menos outra avaliação tardia (em geral aos 6 meses) para examinar os efeitos tardios da cicatrização vascular.<sup>2,3</sup> O FDA ressalta, ainda, que um estudo com seguimento mais tardio (além de 6 meses) pode ser necessário na análise de SFs para avaliação de reações inflamatórias crônicas, endotelização atrasada ou incompleta, trombose ou reestenose tardia dos stents e respostas biológicas crônicas após eluição do medicamento e degradação do polímero.<sup>3</sup> Portanto, a análise pontual apenas aos 28 dias para avaliação do novo stent Inspiron™ não permite determinação acurada da resposta vascular ao implante desse novo dispositivo, bem como não permite conclusões definitivas acerca de sua eficiência antiproliferativa.

Por fim, em comparação à histologia, a TCO pode ser realizada *in vivo*, permitindo quantificação de parâmetros morfométricos do stent ao longo de toda sua extensão, em diversos períodos temporais, e sem a presença de artefatos ou distorções, frequentemente observados como consequência de preparo tecidual e corte das amostras. Apesar de subutilizada no presente estudo, acreditamos que a TCO tem potencial de fornecer informações de valor inestimável no cenário pré-clínico, complementando de forma longitudinal e mais compreensiva as avaliações histológicas pontuais, permitindo melhor entendimento da resposta e cicatrização vascular após implante de SFs antes de sua aplicação em humanos.

## CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflito de interesses relacionado a este manuscrito.

## REFERÊNCIAS

1. Takimura CK, Galon MZ, Lopes Jr. ACA, Carvalho J, Ferreira SK, Chaves MJF, et al. Avaliação pela tomografia de coerência óptica de stent nacional recoberto com polímero biodegradável eluidor de sirolimus vs. stent eluidor de biolimus A9 em artérias coronárias porcinas. *Rev Bras Cardiol Invasiva*. 2011; 19(2):138-44.
2. Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, Chronos N, Rogers C, Robinson KA, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: recommended evaluation from a consensus group. *Circulation*. 2002;106(14):1867-73.
3. U.S. Department of Health and Human Services; Food and Drug Administration. Guidance for Industry: coronary drug-eluting stents - nonclinical and clinical studies: companion document [Internet]. Rockville, MD; 2008 [cited 2009 Sept 3]. Available from: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM072196.pdf>
4. Tanigawa J, Barlis P, Di Mario C. Intravascular optical coherence tomography: optimisation of image acquisition and quantitative assessment of stent strut apposition. *EuroIntervention*. 2007;3(1): 128-36.
5. Bezerra HG, Costa MA, Guagliumi G, Rollins AM, Simon DI. Intracoronary optical coherence tomography: a comprehensive review clinical and research applications. *JACC Cardiovasc Interv*. 2009;2(11):1035-46.
6. Finn AV, Joner M, Nakazawa G, Kolodgie F, Newell J, John MC, et al. Pathological correlates of late drug-eluting stent thrombosis: strut coverage as a marker of endothelialization. *Circulation*. 2007;115(18):2435-41.
7. Bouma BE, Tearney GJ, Yabushita H, Shishkov M, Kauffman CR, DeJoseph Gauthier D, et al. Evaluation of intracoronary stenting by intravascular optical coherence tomography. *Heart*. 2003;89(3):317-20.
8. Matsumoto D, Shite J, Shinke T, Otake H, Tanino Y, Ogasawara D, et al. Neointimal coverage of sirolimus-eluting stents at 6-month follow-up: evaluated by optical coherence tomography. *Eur Heart J*. 2007;28(8):961-7.
9. Suzuki Y, Ikeno F, Koizumi T, Tio F, Yeung AC, Yock PG, et al. In vivo comparison between optical coherence tomography and intravascular ultrasound for detecting small degrees of in-stent neointima after stent implantation. *JACC Cardiovasc Interv*. 2008;1(2):168-73.
10. Prati F, Zimarino M, Stabile E, Pizzicannella G, Fouad T, Rabozzi R, et al. Does optical coherence tomography identify arterial healing after stenting? An in vivo comparison with histology, in a rabbit carotid model. *Heart*. 2008;94(2):217-21.
11. Capodanno D, Prati F, Pawlowsky T, Cera M, La Manna A, Albertucci M, et al. Comparison of optical coherence tomography and intravascular ultrasound for the assessment of in-stent tissue coverage after stent implantation. *EuroIntervention*. 2009;5(5):538-43.
12. Murata A, Wallace-Bradley D, Tellez A, Alviar C, Aboodi M, Sheehy A, et al. Accuracy of optical coherence tomography in the evaluation of neointimal coverage after stent implantation. *JACC Cardiovasc Imaging*. 2010;3(1):76-84.
13. Tahara S, Chamié D, Baibars M, Alraies C, Costa M. Optical coherence tomography endpoints in stent clinical investigations: strut coverage. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2011;27(2):271-87.
14. Gonzalo N, Serruys PW, Okamura T, van Beusekom HM, Garcia-Garcia HM, van Soest G, et al. Optical coherence tomography patterns of stent restenosis. *Am Heart J*. 2009; 158(2):284-93.
15. Takano M, Yamamoto M, Inami S, Murakami D, Ohba T, Seino Y, et al. Appearance of lipid-laden intima and neovascularization after implantation of bare-metal stents extended late-phase observation by intracoronary optical coherence tomography. *J Am Coll Cardiol*. 2009;55(1):26-32.
16. Hou J, Qi H, Zhang M, Ma L, Liu H, Han Z, et al. Development of lipid-rich plaque inside bare metal stent: possible mechanism of late stent thrombosis? An optical coherence tomography study. *Heart*. 2010;96(15):1187-90.
17. Teramoto T, Ikeno F, Otake H, Lyons JK, van Beusekom HM, Fearon WF, et al. Intriguing peri-strut low-intensity area detected by optical coherence tomography after coronary stent deployment. *Circ J*. 2010;74(6):1257-9.
18. Templin C, Meyer M, Muller MF, Djonov V, Hlushchuk R, Dimova I, et al. Coronary Optical Frequency Domain Imaging (OFDI) for in vivo evaluation of bare healing: comparison with light and electron microscopy. *Eur Heart J*. 2010;31(14): 1792-801.
19. Terashima M, Rathore S, Suzuki Y, Nakayama Y, Kaneda H, Nasu K, et al. Accuracy and reproducibility of stent-strut thickness determined by optical coherence tomography. *J Invasive Cardiol*. 2009;21(11):602-5.
20. Guagliumi G, Musumeci G, Sirbu V, Bezerra HG, Suzuki N, Fiocca L, et al. Optical coherence tomography assessment of in vivo vascular response after implantation of overlapping bare-metal and drug-eluting stents. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010;3(5):531-9.
21. Mehanna EA, Attizzani GF, Kyono H, Hake M, Bezerra HG. Assessment of coronary stent by optical coherence tomography, methodology and definitions. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2011; 27(2):259-69.
22. Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A. Drug eluting stents: are human and animal studies comparable? *Heart*. 2003; 89(2):133-8.