



UNIVERSIDAD DE LEÓN
FACULTAD DE VETERINARIA

DEPARTAMENTO DE MEDICINA, CIRUGÍA Y ANATOMÍA VETERINARIA

TESIS DOCTORAL

**INFLUENCIA DE DIFERENTES MODELOS DE STENT EN LA
REESTENOSIS DE ARTERIAS CORONARIAS**

**INFLUENCE OF DIFFERENT CORONARY STENT MODELS IN
CORONARY ARTERY RESTENOSIS**

Memoria presentada por el Licenciado en Medicina y Cirugía
D. Felipe Fernández-Vázquez, para optar al grado de Doctor
por la Universidad de León.

León, 28 de Septiembre de 2009



UNIVERSIDAD DE LEÓN

**AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS
PARA SU PRESENTACIÓN
(Artículo 11.3 del R.D. 56/2005)**

Los Doctores **Doña María Asunción Orden Recio, Don José Manuel Gonzalo Orden, Don Serafín Costilla García** como Directores¹ de la Tesis Doctoral titulada: **“INFLUENCIA DE DIFERENTES MODELOS DE STENT EN LA REESTENOSIS DE ARTERIAS CORONARIAS”** y cuyo título en inglés es **“INFLUENCE OF DIFFERENT CORONARY STENT MODELS IN CORONARY ARTERY RESTENOSIS”**, realizada por **D. Felipe Fernández-Vázquez** en el **DEPARTAMENTO DE MEDICINA, CIRUGÍA Y ANATOMÍA VETERINARIA**, autorizamos su presentación a trámite, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firman, para dar cumplimiento al artículo 11.3 del R.D. 56/2005, en León a 28 de Septiembre de 2009.

Doña María Asunción Orden Recio

D. José Manuel Gonzalo Orden

D. Serafín Costilla García

- 1 Si la Tesis esta dirigida por más de un Director tienen que constar los datos de cada uno y han de firmar cada uno de ellos.



UNIVERSIDAD DE LEÓN

CONFORMIDAD DEL DEPARTAMENTO

(Artículo 11.3 del R.D. 56/2005 y

Norma 7ª de las Complementarias de la ULE)

EL DEPARTAMENTO DE MEDICINA, CIRUGÍA Y ANATOMÍA VETERINARIA, en su reunión celebrada el día 28 de Septiembre de 2009 ha acordado dar su admisión a trámite de lectura de la Tesis Doctoral titulada **“INFLUENCIA DE DIFERENTES MODELOS DE STENT EN LA REESTENOSIS DE ARTERIAS CORONARIAS”** dirigida por los Doctores **Doña María Asunción Orden Recio, D. José Manuel Gonzalo Orden y D. Serafín Costilla García**, elaborada por **D. Felipe Fernández- Vázquez**, y cuyo título en inglés es el siguiente **“INFLUENCE OF DIFFERENT CORONARY STENT MODELS IN CORONARY ARTERY RESTENOSIS”**

Lo que firmo, para dar cumplimiento al artículo 11.3 del R.D. 56/2005, en León a 28 de Septiembre de 2009.

**El Secretario del
Departamento**

Fdo.: Juan Rejas López

VºBº
La Directora del Departamento,
Fdo.: Inmaculada Díez Prieto

Amamos lo que comprendemos...

*¡Gracias a todos aquellos y aquellas,
que me habéis enseñado a comprender!*

Dedicada a los que han sido y son ejemplo de vida:

A la memoria de mi padre y a mi hermano José Pedro

... y a los que desearía servir de ejemplo:

A mis hijos Felipe y Álvaro

..., efectivamente: *Uno de 50 !!*

AGRADECIMIENTOS

A los responsables de I+D+i de Iberhospitex y Uriach, promotores de este proyecto; en especial a mi amigo Luís Duocastella, con quien comparto ocho años de ilusiones, retos y fidelidad profesional.

A los directores de este trabajo, María Asunción Orden Recio, José Manuel Gonzalo Orden y Serafín Costilla García, por su confianza y estímulo permanente; siempre que los necesité, me recibieron con los brazos abiertos. ¡Manu, además de director eres un buen amigo!

Al Profesor Ángel Álvarez Arenal quien me ha ayudado a comprender, que detrás de la meticulosa y a veces dura metodología científica, está la generosidad de quien te enseña.

A la Universidad de León y al Hospital Universitario; a la Facultad de Veterinaria y al Servicio de Cardiología; me siento muy orgulloso de llevar esta camiseta.

A todo el personal fijo y becarios de los Departamentos de Cirugía y Patología General y Anatomía Patológica de Facultad de Veterinaria de León, porque han sido piezas clave para la realización de este proyecto; en especial a mis amigos José Altónaga, Marta Purriño, Claudia Pérez y José Ajenjo.

A todo el personal de la Sección de Hemodinámica y Cardiología Intervencionista del Hospital Universitario de León: Nieves, Puri, Julio, Jone, Fani, Tina, Seve, Alex, Rosana, Tere, Blanca, Elena, Mónica, Ana, Paula, Camino, José, Olga, Antonio, Alejandro, Carlos y Armando, porque todos y cada uno ocupan un lugar de privilegio en mi corazón: ¡Gracias equipo, sois los mejores!

Al grupo HEMOLEON, de la Fundación Investigación Sanitaria:

- ✓ A Carlos, Alejandro y Antonio, médicos especialistas en Hemodinámica y Cardiología Intervencionista y a Blanca, Mónica y Elena, DUE especialistas en Hemodinámica y Cardiología Intervencionista, porque además de excelentes profesionales, sabéis cultivar los valores del respeto, solidaridad y trabajo en equipo. ¡Estaré siempre en deuda con vosotros!

- ✓ A Armando Pérez de Prado, porque en diez años de intensa relación personal y profesional, solo tengo palabras de elogio y reconocimiento. Estoy de acuerdo: ¡"Nasío pa dilatá"! ¡Gracias Socio, gracias de corazón!

A mis amigos Pablo y Manuel por..., por muchos motivos, pero en especial porque durante años han aguantado mis impertinencias.

Por último a tres personas muy especiales: a mi madre y a mi hermana Helena porque siempre han estado a mi lado, y a Susana porque en silencio siempre me ha dado todo su apoyo y comprensión; sin ellas todo hubiera sido mucho más difícil.

***INFLUENCIA DE DIFERENTES MODELOS DE STENT EN
LA REESTENOSIS DE ARTERIAS CORONARIAS***

***INFLUENCE OF DIFFERENT CORONARY STENT
MODELS IN CORONARY ARTERY RESTENOSIS***

Doctorando: FELIPE FERNÁNDEZ-VÁZQUEZ

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA	13
2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA	19
2.1. <i>De la angioplastia , reestenosis y su importancia clínica</i>	21
2.2. <i>Fisiopatología de la reestenosis y factores de riesgo</i>	25
2.3. <i>Prevención y tratamiento de la reestenosis</i>	35
2.4. <i>De los stents, polímeros y paclitaxel</i>	45
2.4.1. <i>De los stents</i>	45
2.4.2. <i>De los polímeros: fundamentos y tipos</i>	53
2.4.3. <i>De los stents y fármacos de recubrimiento</i>	66
2.5. <i>El modelo porcino en la experimentación animal</i>	79
3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	89
4. MATERIAL Y METODOLOGÍA	95
4.1. <i>Selección de la muestra y modelo experimental</i>	97
4.2. <i>Procedimiento intervencionista</i>	98
4.3. <i>Procederes de registro y medida</i>	103
4.4. <i>Análisis estadístico</i>	113
5. RESULTADOS	129
5.1. <i>De la Histología y el procedimiento</i>	131
5.2. <i>Estadística uni y bivalente</i>	132
5.3. <i>Estadística multivalente</i>	169
6. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	195
7. CONCLUSIONES	223
8. RESUMEN	229
9. BIBLIOGRAFÍA	235

***INTRODUCCIÓN Y
JUSTIFICACIÓN DEL TEMA***

1. INTRODUCCIÓN Y JUSTIFICACIÓN DEL TEMA

En el mundo occidental las enfermedades cardiovasculares siguen siendo la principal causa de muerte. Entre ellas, la oclusión de las arterias coronarias como consecuencia de la aterosclerosis ocupa un lugar destacado. No obstante la tasa de mortalidad por esta causa ha disminuido o disminuye progresivamente desde el año 1977 en que Gruntzig (Gruntzig, 1978), comenzó a utilizar la angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) como técnica de reperfusión mecánica, para tratar de reestablecer el flujo arterial coronario. Desde entonces y hasta hoy es la técnica de revascularización más frecuentemente utilizada para el tratamiento de la isquemia miocárdica producida por la enfermedad coronaria aterosclerótica.

Sin embargo el éxito inicial de la ACTP se vio ensombrecido por el hecho de que en el periodo de los 6-8 primeros meses post-procedimiento (angioplastia con balón), alrededor de un 35-40% de los pacientes, volvían a presentar obstrucción arterial (reestenosis) (Serruys, 1988 y Nobuyoshi, 1988).

Aparte de esta complicación, esta técnica exhibe otras limitaciones como son la retracción elástica de la arteria (“recoil”) y la oclusión coronaria aguda.

Con el propósito de subsanar las limitaciones de la ACTP, al comienzo de la década de los 90 aparecieron los stent coronarios, (estructuras metálicas en forma de anillos o mallas cilíndricas) que pretendían mantener abierta la arteria tras la angioplastia. Con esta técnica

se ha comprobado que la retracción elástica de la arteria y la oclusión aguda se reducen drásticamente, y más aún con la combinación de stent e inhibidores de receptores de la glicoproteína IIb-IIIa, entre otros medios (Sinno, 2007).

No obstante, aunque con los stent el porcentaje de reestenosis disminuyó drásticamente hasta situarse alrededor del 15-20%, queda aún un remanente de pacientes que padecen el fenómeno de reestenosis. Y todo ello, a pesar de las continuas mejoras e innovaciones que han tenido y tienen estas técnicas percutáneas para el tratamiento de las arterias coronarias enfermas, que las han llevado a ser consideradas por médicos encuestados como una de las de más valor en la medicina actual (Fuchs, 2001).

A todo ello se une además problemas económicos, unos atribuibles directamente a la reestenosis, derivados de la necesidad de nuevos procedimientos de revascularización, mayor número de hospitalizaciones y mayor consumo de medicación; y otros indirectos, relacionados con la realización de mayor número de pruebas diagnósticas con la consiguiente pérdida de productividad. Además de costes no económicos derivados del incremento de la morbi-mortalidad y una pérdida de la calidad de vida.

Por esto y otras razones, la prevención de la reestenosis es de máximo interés en la investigación básica y clínica, y continua generando un gran número de publicaciones en las revistas científicas al uso, ensayando procedimientos, modelos de stent y fármacos.

Entre el arsenal farmacológico, muchos fármacos, tanto local como sistémicamente, se han ensayado para intentar reducir la tasa de reestenosis con balón y del stent coronario sin lograrlo, basta recordar el uso de los inhibidores plaquetarios, anticoagulantes, antiinflamatorios, inhibidores de la proliferación y migración celular, hipolipemiantes y vasodilatadores. No obstante parece ser que la administración de fármacos (citostáticos) localmente, en el mismo stent, es la línea de éxito para obtener importantes descensos en reestenosis, en una gran variedad de condiciones clínicas de pacientes y características de las lesiones coronarias (Sousa, 2001; Morice, 2002; Grube, 2003; Colombo, 2003; Stone, 2004; Serruys, 2005)

A pesar de los intentos realizados con unos y otros fármacos y stents no se ha conseguido abolir la reestenosis con los dispositivos actualmente disponibles, aunque a día de hoy, la mejor herramienta del cardiólogo intervencionista es el stent fármaco activo (SFA), que controla los aspectos mecánicos relacionados con la reactividad vascular, asociado a un fármaco local, que intenta controlar la respuesta proliferativa.

Como no está suficientemente aclarado cual es el mejor modelo de stent ni el recubrimiento más apropiado para el mismo, con el fin de prevenir o reducir la reestenosis coronaria y aunque sospechamos que la utilización de nuevos fármacos y asociaciones de los mismos, nuevos polímeros y diseños, así como los avances de la medicina genómica, permitirán nuevos abordajes que contribuyan a la solución definitiva del problema de la reestenosis, es ésta la motivación y justificación que nos lleva a realizar este proyecto de tesis doctoral.

ESTADO ACTUAL DEL TEMA

2. ESTADO ACTUAL DEL TEMA

2.1. DE LA ANGIOPLASTIA CORONARIA, REESTENOSIS Y SU IMPORTANCIA CLÍNICA

La enfermedad coronaria aterosclerótica es una causa frecuente de morbi-mortalidad en los países desarrollados. En general consiste en la aparición de placas en la pared interna de las arterias coronarias, que crecen hasta producir una estenosis lo suficientemente severa como para comprometer el flujo sanguíneo al miocardio distal, dando lugar a dolor torácico secundario a isquemia (angina) o necrosis (infarto agudo de miocardio) si la obstrucción al flujo es completa y prolongada.

Inicialmente su tratamiento era puramente farmacológico, utilizando sustancias que disminuyeran el consumo de oxígeno del miocardio, intentando mejorar la sintomatología del paciente. Posteriormente, el desarrollo de la cirugía cardíaca permitió el tratamiento quirúrgico de estos pacientes mediante la colocación de un fragmento de vena o arteria que llevan sangre desde la aorta hasta la porción distal a la estenosis, mejorando el flujo sanguíneo en el miocardio isquémico. La necesidad de realizar un procedimiento quirúrgico, agresivo, con circulación extracorpórea, limitaba la indicación de revascularización solamente a los pacientes con enfermedad más grave o con síntomas incapacitantes a pesar del tratamiento farmacológico intenso.

La introducción de la técnica de revascularización a través del cateterismo cardíaco denominada angioplastia coronaria transluminal percutánea (ACTP) a finales de los años 70 por Andreas Gruntzig (1977), permitió la revascularización coronaria, mejorando el flujo al miocardio,

sin necesidad de aplicar un tratamiento tan agresivo como la cirugía cardiaca.

Brevemente, esta técnica consiste en avanzar un fino catéter, que lleva un globo distensible en la parte distal, por una arteria coronaria hasta el lugar donde se encuentra una estenosis y, una vez que está en la zona de la estenosis, inflar el globo, de modo que se aplica presión circunferencial y homogénea contra la pared arterial, que aplasta, comprime y rompe la placa aterosclerótica aumentando el área de la luz del vaso.

En la validación de esta técnica, iniciada en 1979 y patrocinada por el National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI), participaron 73 centros de todos el mundo (Kent, 1982). Sus resultados fueron satisfactorios (Kent, 1984) y los avances en el material, en el tratamiento farmacológico asociado y la experiencia con dispositivos distintos del balón aseguraron porcentajes de éxito muy altos, hasta del 94%, por lo que es la técnica de revascularización miocárdica más frecuente utilizada en España desde 1992 (Soriano, 1999). Aunque con una limitación importante, como es la reaparición de la estenosis o reestenosis, que ocurre casi siempre en los primeros 6 meses (Serruys, 1988 y Nobuyoshi, 1988), con apariciones precoces en las primeras 24 horas debido a la retracción elástica de la arteria y con máxima incidencia entre el primero y tercer mes; si bien, en todas las lesiones tratadas se observa cierta pérdida de la luz debido a retracción elástica y proliferación intimal.

No obstante la prevalencia/porcentaje de reestenosis varía en función del criterio para definirla. *Para el angiográfico*, es una estenosis mayor del 50% en el segmento tratado y/o los 5 mm adyacentes (proximal y distal); esta definición no requiere la existencia de síntomas pero tiene los

inconvenientes de que es necesario realizar una angiografía coronaria para diagnosticarla o descartarla, es dicotómica (reestenosis sí o no) e introduce sesgos dependientes del observador y del método de cuantificación (Kuntz, 1992). Por eso la medida de los diámetros lumbales basales, postintervención y en el seguimiento en términos de *ganancia aguda* (diferencia en el diámetro luminal antes e inmediatamente después del procedimiento) y *pérdida tardía* (diferencia entre el diámetro postintervención y en el seguimiento) suponen un avance significativo (Kuntz, 1993), al ofrecer información sobre el impacto del dispositivo, el remodelado del vaso, el retroceso elástico y la respuesta proliferativa neointimal.

Para el criterio clínico, la recurrencia de la angina, la evidencia objetiva de isquemia por pruebas de provocación, la necesidad de nueva revascularización, el infarto o la muerte, es la semiología que valora el impacto clínico de la angioplastia coronaria. No obstante, la recurrencia de la angina o su equivalente anginoso (isquemia silente) después de la ACTP es menos frecuente que la reestenosis angiográfica, y sólo de la mitad a los dos tercios de los pacientes con reestenosis angiográfica necesitarán una nueva revascularización, ya que en ausencia de demostración de isquemia, una estenosis > del 50% por criterios angiográficos no se considera reestenosis clínica. (Serruys, 1994; Topol, 1993; Fischman, 1994; Adelman, 1993). Esta falta de correlación entre reestenosis clínica y angiográfica, dificulta establecer la prevalencia/frecuencia de la misma. A pesar de lo dicho, la reestenosis con ser un hecho clínico importante, no lo es tanto, ya que puede producir la recidiva de la angina pero la aparición de infartos de miocardio o la muerte como consecuencia del proceso reestenótico es poco frecuente, y no influye demasiado en la supervivencia (Holmes, 1984).

La oclusión aguda es un fenómeno de menor frecuencia que se ha reducido con la aplicación del stent (Sigwart, 1987) y el uso de inhibidores de receptores de la glicoproteína IIb-IIIa, entre otros medios (Sinno, 2007). No obstante durante muchos años, tanto la oclusión aguda como la reestenosis han sido la principal limitación de la angioplastia, de hecho, se hace referencia a ésta última como “el talón de Aquiles de la angioplastia”. Por ello, desde que se tuvo conocimiento de la alta frecuencia de esta complicación, se dirigieron las investigaciones hacia la delimitación de factores predisponentes, la descripción de los mecanismos fisiopatológicos responsables y la búsqueda de un tratamiento eficaz en prevenir la reestenosis.

En esta línea tiene un papel destacado el stent coronario que fue introducido por Sigwart en 1987, preferentemente para el tratamiento de las complicaciones agudas de la angioplastia. En comparación con el balón, el stent disminuye la necesidad de revascularización urgente (Roubin, 1988) y reduce la reestenosis (Kuntz, 1993). Inicialmente se demostró su eficacia en la reducción la reestenosis, en pacientes con retroceso elástico precoz de la arteria coronaria tratada (Rodríguez, 1995) y en pacientes con resultado subóptimo del procedimiento (Knight, 1999). Previamente tres ensayos clínicos en pacientes con lesiones favorables (lesiones de novo y en vasos de al menos 3 mm) mostraron que el stent implantado electivamente también reduce la reestenosis, con tasas de reestenosis angiográfica a los seis meses del 22% en los ensayos BENESTENT (Serruys, 1994) y START (Betriu, 1994) hasta el 31,6% en el STRESS (Fischman, 1994), en comparación al grupo solo balón que fueron del 32%, 37% y 42,1% respectivamente.

Esta menor tasa de reestenosis del stent se debe fundamentalmente a la ganancia aguda postdilatación, puesto que la pérdida tardía es superior a la obtenida con balón. Aunque teóricamente el stent elimina el retroceso elástico y el remodelado negativo, la respuesta proliferativa neointimal es superior (Dussaillant, 1995).

Comentado lo anterior, y utilícese el criterio de definición de reestenosis que se utilice, y puesto que la predisposición a la reestenosis después de una angioplastia parece depender de variables clínicas, de factores genéticos, de las características angiográficas de la lesión y de factores relacionados con el propio procedimiento (Samani, 1995; Le Feuvre, 1994; Foley, 1994; Moscucci, 1996), su prevalencia varía entre un 30-50% para las lesiones tratadas con angioplastia con balón, a un 15-30% para las lesiones tratadas con stent convencional, con tasas de necesidad de nueva revascularización del 10% (Lowe, 2002; Bauters, 2002; Kastrati, 1997).

Por otro lado, la arterosclerosis como la reestenosis son complejos fenómenos multifactoriales: acumulación de lípidos, disfunción del endotelio, adhesiones de leucocitos, migración celular, inestabilidad de las placas, etc., que hacen necesario conocer su fisiopatología y patogénesis.

2.2. FISIOPATOLOGÍA DE LA REESTENOSIS Y FACTORES DE RIESGO

La angioplastia coronaria conlleva la compresión de la placa con producción de fisuras, fracturas y pequeñas disecciones, que aumentan la luz efectiva del flujo arterial; sin embargo estas líneas de disección pueden penetrar hasta la capa media, cuando se rompe la lámina elástica interna, en

cualquier caso la capa media y la adventicia se acomodan al calibre del balón completamente inflado. La respuesta fisiológica y reparadora a esta agresión tiene lugar durante 3 o más meses, y aunque la mayoría de las veces se logra mantener de forma duradera el calibre de la luz del vaso, en algunas ocasiones este proceso de cicatrización puede finalizar en una lesión similar o mayor a la lesión inicial.

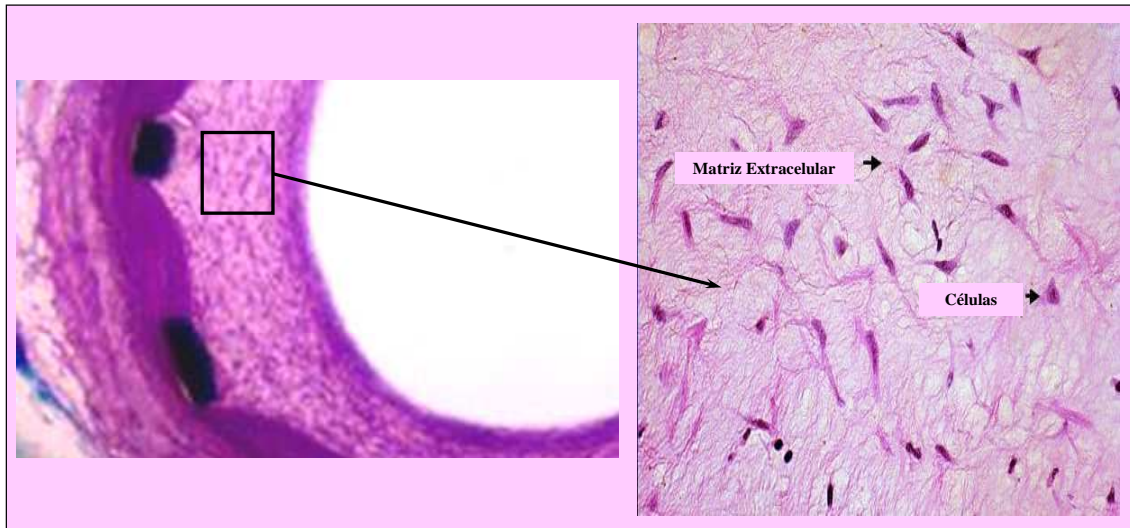
Dentro de los mecanismos fisiopatológicos responsables de la reestenosis podemos considerar que un *resultado subóptimo* en la dilatación de la estenosis, sin fractura de la placa o con expansión arterial incompleta, predispone a la reestenosis. Así mismo, *la retracción elástica* de la arteria dilatada, la formación de un *trombo mural* en el lugar de la ACTP o un proceso de *cicatrización exagerado* son posibles mecanismos de la reestenosis post-ACTP

En general en el fenómeno de la reestenosis tras angioplastia con balón o tras la implantación de un stent participan tres procesos fundamentales (Farb, 1999; Welt, 2002):

- *Retroceso elástico (elastic recoil)*: muy precoz, ocurre tras el desinflado del balón. Es debido al componente elástico del vaso y a la lesión aterosclerótica.
- *Hiperplasia neointimal*: se desarrolla en los meses siguientes. Según se ha observado en estudios experimentales, la hiperplasia de la neoíntima está causada por factores de crecimiento y citoquinas que originan proliferación y migración de células musculares lisas de la media y síntesis de matriz extracelular (Virmani, 1994; Schwartz, 1990; Liu, 1989; Forrester, 1991) (figura 1).

- *Remodelado negativo*: disminución del área total del vaso por engrosamiento de la adventicia. También ocurre a lo largo de los primeros meses.

Figura 1. Hiperplasia neointimal: células y matriz extracelular



En cualquier caso para prevenir la reestenosis es importante comprender el mecanismo fisiopatológico que subyace en los tres procesos. *El retroceso elástico* es una respuesta natural de los vasos intactos a la distensión, como consecuencia de las propiedades elásticas de la pared arterial. Una pérdida postangioplastia, de la ganancia de la luz del vaso $> 10\%$, se ha asociado a una reestenosis del 73%, frente a una reestenosis del 9% cuando la pérdida de la luz es $<$ del 10% (Rodríguez, 1995). Las endoprótesis coronarias (stents) han resuelto prácticamente este problema, consiguiendo con el andamiaje, una mayor luz arterial (ganancia luminal aguda) y prevención del retroceso elástico. Como ya se comentó previamente, la menor tasa de reestenosis del stent se debe fundamentalmente a estos mecanismos, puesto que la pérdida tardía por proliferación neointimal es incluso superior a la obtenida con balón (Dussailant, 1995).

Los eventos que van desde el trombo hasta la formación de neoíntima (*hiperplasia neointimal*) siguen una *secuencia cronológica* que puede terminar en una reestenosis y que ahora comentamos. Tras la angioplastia con balón y/o la implantación de un stent, se produce la *denudación endotelial* que va seguida del depósito de una fina capa de plaquetas y fibrina (*fase trombótica*). Estas plaquetas activadas expresan moléculas de adhesión (P-selectina y glucoproteína Ib) que fijan a los leucocitos circulantes (*fase de reclutamiento leucocitario*), que bajo la influencia de citoquinas, otras moléculas de adhesión (Mac-1) y el fibrinógeno producen la migración de leucocitos y células musculares lisas a través de la capa formada de plaquetas y fibrina. La liberación de factores de crecimiento por los leucocitos, plaquetas y células musculares lisas estimula la proliferación y migración de células musculares lisas de la media a la íntima (*fase de infiltración leucocitaria*). La neoíntima resultante tiene un componente celular (macrófagos y células musculares lisas reclutados a largo de varias semanas: *fase de crecimiento neointimal*) y una matriz extracelular compuesta por proteoglicanos, que suponen más del 50% del volumen de placa final. El proceso concluye con la reendotelización de la zona dañada (Schwartz, 2002; Libby, 2001; Welt, 2002). Este proceso alcanza su nivel máximo en el tercer mes, con estabilización entre el tercer y sexto mes.

Se ha demostrado que cuanto más profundo y extenso es el daño efectuado sobre la pared del vaso, la respuesta inflamatoria es mayor y en consecuencia la respuesta proliferativa neointimal es más intensa (Santoian 1992; Schwartz, 1992). Sin embargo aunque observaciones de autopsias han mostrado que la hiperplasia de la íntima es capaz de ocluir la luz arterial después de una ACTP (Austin, 1985; Farb, 1990; Nobuyoshi, 1991), este proceso por si solo no es suficiente para explicar todas las

reestenosis observadas. Hasta un 40% de las reestenosis encontradas en exámenes necrópsicos no presentaban proliferación de la íntima (Waller, 1991), y se han observado niveles semejantes de proliferación muscular lisa en lesiones con y sin reestenosis (Farb, 1990; Nobuyoshi, 1991).

El tercer proceso, el denominado *remodelado arterial*, entendido como el cambio en el área de la sección transversal arterial total, o de la membrana elástica externa, a lo largo del tiempo (Mintz, 1995), puede ser favorable (adaptativo, positivo) o desfavorable (patológico, negativo) en términos de preservación de la luz arterial; siendo *perfecto aquel en que la sección transversal del vaso se expande en igual o mayor medida que el área de hiperplasia; no hay pérdida de la luz del vaso*.

El remodelado arterial adaptativo, positivo o favorable, que aparece en las etapas iniciales de la aterosclerosis, ocurre cuando la expansión del vaso compensa parcialmente la hiperplasia intimal, con ligera disminución de la luz arterial (Glagov, 1987). Por el contrario en el remodelado arterial patológico, negativo o desfavorable no hay cambios en el tamaño de la pared arterial por lo que la hiperplasia produce estenosis o disminución de la luz del vaso (constricción de la arteria en el lugar de la estenosis) (Kimura, 1997) y parece estar causado por la proliferación de los miofibroblastos de la adventicia arterial, de forma parecida a como se produce la contracción de una cicatriz. Aunque pueden coexistir los dos, tal como se relata en estudios con ecografía intracoronaria que permite estudiar la luz y la pared arterial y han comprobado que después de la ACTP puede haber un remodelado tanto patológico, que contribuye a la reestenosis, como adaptativo, evitando la reestenosis (Hong, 1997; Di Mario, 1995). También que puede haber un remodelado bidireccional y

secuencial en el mismo paciente, adaptativo en las etapas iniciales post-ACTP y patológico a partir del primer mes después de la angioplastia.

Pero existe un denominador común tanto a la aterosclerosis como a la reestenosis, como es una excesiva proliferación celular en el lumen de las arterias, a la postre causante del crecimiento de la lesión vascular. Así, la proliferación y migración excesiva de células monocitos/macrófagos y miocitos lisos vasculares favorece el desarrollo de las lesiones vasculares oclusivas.

Por todo ello, resulta evidente que un mayor conocimiento de la comprensión del mecanismo del ciclo celular y cómo se dividen las células nos ayudará a desarrollar nuevas terapias efectivas.

En esta línea, se sabe que el proceso de proliferación celular está controlado por genes cuya expresión se regula a menudo por los llamados factores de transcripción, cuya función puede depender de moléculas extracelulares señalizadoras, las cuales, a su vez, también pueden depender de otros genes.

Cuando una célula, a lo largo de un ciclo celular, se divide en otras dos idénticas, la progresión del proceso se controla por una familia de enzimas denominadas quinasas dependientes de ciclinas (CDK), que se activan al interactuar con unas pequeñas proteínas, las ciclinas, cuya concentración varía regularmente a lo largo del ciclo. Cada ciclina activa a una determinada CDK.

Es lógico, pues, que para intentar frenar los procesos de proliferación celular que subyacen en los fenómenos de arterioesclerosis y reestenosis

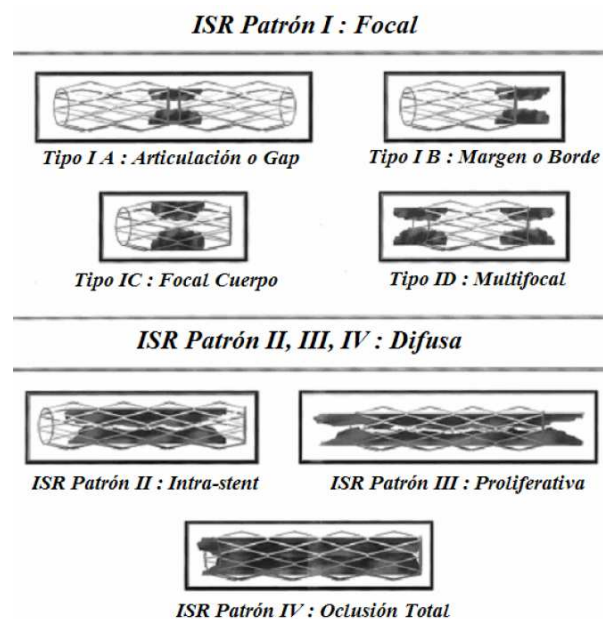
una de las aproximaciones más interesantes sea la procurar frenar la descontrolada proliferación celular que es su fundamento. Dada la tremenda complejidad de los acontecimientos que participan y regulan cada ciclo celular, una aproximación de este tipo se puede realizar desde puntos de partida muy diversos, siendo el genético uno de los más atractivos.

En cuanto al genético, son muchos los genes responsables de que se expresen las enzimas y moléculas reguladoras del ciclo. Los más interesantes son aquellos cuya sobreexpresión o activación consiguen una reducción en la velocidad del ciclo celular, de la proliferación celular. Entre ellos, se han investigado algunos responsables de las siguientes moléculas, que a su vez controlan diversos mecanismos: VEGF (factor de crecimiento endotelial vascular), eNOS, iNOS (sintasas de óxido nítrico), TIMPs (Inhibidores tisulares de metaloproteinasas) COX (ciclooxigenasas), TK (timidina quinasa), CyA (citosina desaminasa), NFkB (factor nuclear kB), p16, p27, etcétera. Para no ser exhaustivos tan solo nos referiremos a uno de los más interesantes, el gen p27, que es un inhibidor de CDK o quinasas dependientes de ciclinas. Por tanto, si esto es así y al menos teóricamente, una menor expresión de p27 significará una mayor proliferación y una mayor expresión de p27 conducirá a una disminución de la proliferación. Investigaciones en esta línea con ratones modificados genéticamente (Díez-Juan, 2004), han mostrado que la sobreexpresión del gen p27 inhibe la proliferación celular y la reestenosis. La inactivación parcial o total de p27, por el contrario, aumenta significativamente la proliferación celular en la pared celular y acelera la arterioesclerosis inducida por una dieta rica en grasa y colesterol. Así en los animales hipercolesterolémicos la aorta mostraba mucha mayor propensión a la arterioesclerosis que la arteria femoral, como correspondencia a una disminución de la expresión de p27 de aquella arteria por un aumento de la femoral.

Las compañías farmacéuticas biotecnológicas Cell Génesis Inc. y GPC Biotech AG han desarrollado un gen de fusión p27/p16, suministrado mediante un sistema de adenovirus, que por lo menos en modelos porcinos ha mostrado ser un potente inhibidor de la reestenosis sin mostrar efectos adversos, por lo que a falta de comenzar los ensayos clínicos, que será en breve, el futuro parece esperanzado.

Producida la reestenosis, es evidente que todas son semejantes pero no iguales, por lo que interesa una clasificación que nos informe de su severidad y extensión como base de comparación. Aunque se han propuesto muchas taxonomías la más utilizada es la de Mehran et al en 1999. Este autor clasifica la reestenosis intra-stent (ISR) en cuatro patrones dependiendo de su longitud y localización (figura 2). Las reestenosis de hasta de 10 mm de longitud son focales (tipo I) con distintos subtipos dependiendo de la localización y el resto (tipo II, III y IV) son difusas con diferencias en función de la severidad y extensión de la reestenosis.

Figura 2. Patrones de reestenosis según la clasificación de Mehran et al., 1999.



FACTORES DE RIESGO

Expuestos y conocidos los mecanismos íntimos que provocan reestenosis y antes de abordar su prevención como tratamiento, es necesario abordar cuales son los factores que pueden influir en su aparición y pronóstico. Son múltiples y variados pero en cualquier caso se relacionan con el paciente o con la lesión y su procedimiento.

En relación al paciente, los factores que se han asociado con el aumento del riesgo de reestenosis son principalmente pacientes con síndromes coronarios agudos, diabetes, insuficiencia renal o con una predisposición intrínseca para desarrollar reestenosis.

En los pacientes con síndrome coronario agudo, el estado inflamatorio y el medio interno trombótico aumentan aún más con la intervención coronaria, favoreciéndose la formación acelerada del trombo y la proliferación de la neoíntima, contribuyendo ambos procesos a facilitar la reestenosis.

En cuanto a los factores clínicos, la diabetes mellitus (DM) y la insuficiencia renal son los factores clínicos que más predisponen a la reestenosis (Abizaid, 1998; Kornowski, 1997; Van Belle, 1999; Halkin, 2005). Los pacientes con diabetes presentan una mayor tasa de reestenosis, posiblemente debido a disfunciones endoteliales, a su mayor facilidad de agregación plaquetaria y trombogénesis, así varios estudios han demostrado que el riesgo relativo de reestenosis entre los diabéticos es aproximadamente 1,3 veces mayor que en los no diabéticos (Lambert, 1988; Myler, 1987). La presencia de insuficiencia renal crónica está asociada con peores resultados a corto y largo plazo, incluyendo una tasa

mayor de reestenosis y la necesidad de nueva revascularización (Azar, 2000; Rubenstein 2000).

La predisposición de algunos pacientes a sufrir procesos reestenóticos podría depender de factores genéticos, como anomalías en la delección del gen de la enzima convertidora de la angiotensina (Ribichini, 1998) o algunos genotipos específicos de la apolipoproteína E.

En cuanto a los factores relacionados con la lesión y con procedimiento, en lo referente a la lesión hay varios *factores morfológicos* que se han asociado a un riesgo elevado de reestenosis (Fanelli, 1990): oclusión total del vaso, severidad de la lesión previa a la ACTP, longitud de la lesión, lesiones proximales de la arteria descendente anterior, lesiones ostiales, lesiones excéntricas, lesiones calcificadas, lesiones en bifurcación, enfermedad aterosclerótica difusa e injertos de safena.

No obstante en la práctica clínica las características de la lesión más importantes, en lo que a la reestenosis, se refiere son:

- *Diámetro del vaso*: es inversamente proporcional al desarrollo de reestenosis.
- *Diámetro mínimo de la luz antes de la intervención*: aunque cuanto menor sea el diámetro mínimo de la luz antes de la intervención mayor será el diámetro ganado después de la angioplastia, esta relación se asocia a mayor pérdida de calibre en etapas posteriores, y mayor frecuencia de reestenosis.
- *Longitud de la lesión*: es un factor importante en el desarrollo posterior de reestenosis. A mayor longitud de la lesión tratada, mayor probabilidad de desarrollo posterior de reestenosis.

- *Diámetro mínimo de la luz después del procedimiento*: un área transversal luminal final equivalente al 55% ó más del área transversal media del vaso, en combinación con un área transversal absoluta de 9 mm² o más, permite confiar en que no se presente reestenosis (Moussa, 1999).

Además la angioplastia sobre una angioplastia previa (Kitazume, 1996), las lesiones complejas (oclusiones crónicas, bifurcaciones, lesiones ostiales o difusas), las lesiones en vaso pequeño o sobre injertos de safena (Jones, 1983; Dorros, 1983) son las que presentan una mayor tasa de reestenosis (Sirnes, 1996; Hoye, 2004; Kastrati, 1999; Heidland, 2001; Akiyam, 1998; Moreno, 2004).

Referido a los *factores relacionados con el procedimiento*, más que de riesgo son predictores de reestenosis y entre ellos tenemos: la longitud del segmento cubierto con stents, la utilización de stents solapados, la presencia de disección intimal no cubierta, el diámetro mínimo luminal tras implante de stent y el tipo o diseño de la endoprótesis (Kastrati, 1997; Abizaid, 1998; Kornowski, 1997; Halkin, 2005; Sirnes, 1996; Hoye, 2004; Kastrati, 1999; Heidland, 2001; Akiyam, 1998; Moreno, 2004; Kornowski, 1998; Park, 2002; Pache, 2003). Además, el resultado subóptimo del procedimiento (pseudoreestenosis) por inadecuada expansión de la prótesis, el prolapso de placa o la implantación de un stent con calibre inadecuado también se han relacionado con reestenosis (Castagna, 2001).

2.3. PREVENCIÓN Y TRATAMIENTO DE LA REESTENOSIS

Conocidos y demostrados los beneficios del stent, la utilización de presiones de inflado elevadas (Colombo, 1995) y la administración de

tienoperidinas asociadas a aspirina han demostrado su beneficio al reducir el riesgo de trombosis del stent (Gregorini, 1997), generalizándose así su utilización, de tal forma que actualmente existen pocos estudios que analicen la prevención de la reestenosis en el contexto de angioplastia sin stent.

En esta línea como la proliferación neointimal es el principal mecanismo de la reestenosis intrastent, todos los esfuerzos se centran en inhibir esta proliferación y así se han empleado estrategias mecánicas, radiación intracoronaria, fármacos por vía sistémica, stents fármaco activos (SFA) y otras terapéuticas en fase de desarrollo o experimentales.

ESTRATEGIAS MECÁNICAS

Los stents han sido la primera estrategia eficaz en la prevención de la reestenosis, tanto en lesiones de novo, como en las reestenóticas (Erbel, 1998). Otras estrategias adicionales como la monitorización del implante guiada por IVUS (intravascular ultrasound) (Fitzgerald, 2000), el implante del stent directo sin predilatación (Martínez-Elbal, 2002), diseño del stent (Pache, 2003), dispositivos de modificación o eliminación de placa como la aterectomía direccional (Stankovic , 2004), la rotacional (Dill, 2000; Von Dahl, 2002) o el balón de corte (Mauri, 2002; Albiero, 2004), han sido utilizadas en distintos ensayos, y aunque a veces con resultados positivos, no han demostrado disminuir de forma significativa la reestenosis.

FÁRMACOS POR VÍA SISTÉMICA

Numerosos fármacos por vía sistémica han sido estudiados y fracasado a nivel clínico en prevención de reestenosis (Paranandi, 1994;

Thornton, 1984; Webster, 1990; Pepine, 1990; Serruys, 1999; Ensayo MERCATOR, 1992; Corcos, 1985; Philips, 2003; Tardif, 1997; Takagi, 2000; Holmes, 2000), tales como inhibidores plaquetarios, anticoagulantes, antiinflamatorios, inhibidores de la proliferación y migración celular, hipolipemiantes y vasodilatadores. Además existen estudios con otras moléculas, pero hasta la actualidad no hay resultados concluyentes que permitan su aplicación clínica a corto plazo, aunque *no se puede descartar esta vía de abordaje en el futuro*.

RADIACIÓN INTRACORONARIA (BRAQUITERAPIA)

Se denomina braquiterapia a la aplicación localizada de la radiación en contacto con el tejido diana. Para la reestenosis se utilizan dos tipos de radiaciones: β y γ , habiendo demostrado ambas su eficacia en reducirla. La gamma consiste en emisión de fotones (gran penetración) y la beta de electrones (escasa penetración). Como ambas son radiaciones ionizantes tienen efecto antiproliferativo y antimigratorio al bloquear la mitosis celular, inhibiendo así la hiperplasia neointimal que causa la reestenosis.

El primer estudio clínico con radiaciones gamma fue realizado por Condado et al (Condado, 1997), observando una reestenosis del 24% a largo plazo. El estudio PREVENT (Raizner, 2000), con radiación beta, en pacientes con y sin stent, también demostró resultados beneficiosos.

La aparición de nuevos problemas clínicos como la trombosis tardía (Leon, 2001; Bottcher, 1994), el “efecto borde” (edge effect) y los aneurismas tardíos (“agujero negros”, “black holes”) (Vandergoten, 2000; Kay, 2003) contribuyeron a disminuir su eficacia. Por otro lado la complejidad de la logística, la necesidad de coordinación con otros

especialistas (medicina nuclear), su elevado coste y las nuevas problemáticas clínicas junto con la aparición de los stents liberadores de fármacos antiproliferativos, han hecho que la braquiterapia haya quedado en desuso (Moreno, 2005).

TRATAMIENTOS EN FASE DE DESARROLLO O EXPERIMENTAL

Entre los que tenemos:

Fármacos basados en ácidos nucleicos

Representan una nueva posibilidad terapéutica para la reestenosis y otras enfermedades. La base es el desarrollo de moléculas de ARN o ADN que inhiben el gen diana regulador del proceso patogénico (proliferación neointimal) (Khachigian, 2000). Existen tres tipos: antisentido, ribozimas y ADNenzimas.

Las antisentido, son moléculas de ADN, que actúan sobre los protooncogenes *c-myb* y *c-myc*, inhibiendo la proliferación neointimal en modelos animales (Hogrefe, 1999). *Las riboenzimas* son moléculas de ARN que bloquean al ARN mensajero diana, inhibiendo la proliferación de las células musculares lisas y la formación de íntima en el modelo de rata (Muotri AR, 1999). *Las ADNenzimas* son moléculas de ADN, que fragmentan el ARN, inhibiendo la reestenosis intrastent en modelos porcinos (Lowe HC, 2001).

Transferencia genética

Consiste en la introducción local de un gen (con adenovirus vectores y con plásmidos de ADN) con el fin de incrementar la función del mismo y obtener un beneficio, en este caso intervenir en el proceso de proliferación neointimal. Se han investigado varios productos genéticos en modelos animales (Schneider, 1999), pero los estudios preliminares en humanos no han demostrado beneficio. Este tipo de técnicas están en fases muy iniciales pero probablemente tengan trascendencia a medida que avance su conocimiento.

Otras técnicas

Se han utilizado los ultrasonidos de alta frecuencia (700 KHz) tras la implantación de stent en cerdos (Alter, 1998) y la irradiación con láser rojo de baja potencia (Lawrice, 1999).

STENTS FÁRMACO-ACTIVOS (SFA)

Representan el mayor avance en la prevención de la reestenosis, desde la introducción del stent convencional, con una eficacia demostrada en estudios clínicos con un importante número de pacientes. Su uso está limitado fundamentalmente por aspectos financieros. La base del tratamiento es la aplicación local de un fármaco inmunosupresor que actúa disminuyendo el proceso de proliferación neointimal, interfiriendo en el ciclo celular a diferentes niveles. La utilización de una endoprótesis coronaria (stent) para la administración de fármacos en una localización determinada, combina el aprovechamiento de una estructura de armazón

eficaz con una acción medicamentosa dirigida y como hemos comentado previamente, la prevención de la reestenosis se intenta conseguir con la administración de fármacos que actúen sobre los procesos biológicos involucrados, con el fin de frenar su desarrollo. No obstante todos los fármacos liberados en la endoprótesis, que previenen la reestenosis, interfieren de alguna forma con el ciclo celular en una u otra de sus fases. Los que lo hacen en la fase G1 se suelen considerar citostáticos, produciendo menos necrosis celular e inflamación, en comparación con los que interfieren el ciclo en etapas más tardías, después de la fase S.

Aunque durante la última década se han analizado infinidad de fármacos sean antiinflamatorios, inmunodepresores y antiproliferativos, el sirolimus y sus derivados como inmunosupresores y los taxanos como antineoplásicos son los que han demostrado un mayor beneficio clínico y son los fármacos predominantes en los actuales SFA.

No obstante todos los fármacos antiproliferativos usados y liberados en las endoprótesis se pueden clasificarse según su principal mecanismo de acción en (tabla I) (Modificada de Dobesh, 2004):

- a. Antineoplásicos
- b. Inmunosupresores
- c. Otros fármacos antiproliferativos: antiinflamatorios, inhibidores de la migración, cicatrizantes

Tabla I. Fármacos antiproliferativos evaluados para su utilización en SFA

Antineoplásicos	Inmunosupresores	Inhibidores de la migración	Cicatrizantes
Paclitaxel	Sirulimus	Inhibidores propilhidroxilasa	Inhibidores HMGC _o A Red.
Taxano QP-2	Tacrolimus	Halofuginona	VEGF
Actinomicina D	Everolimus	Inhibidores C-proteinasa	17- β -estradiol
Vincristina	Zotarolimus	Inhibidores metaloproteinasa	BCP 671
Metotrexato	Biolimus A9	Betimastat	
Angiopeptina	Tranilast		
Mitomicina	Dexametasona		
BCP 678	Metilprednisolona		
Antisentido c-myc	Interferón		
	Leflunomide		
	Ciclosporina		

VEGF: factor de crecimiento endotelial vascular

Sin embargo hay fármacos como el taxol (paclitaxel), que si bien su acción principal es antiproliferativa, también posee propiedades como inmnoorregulador y antiinflamatorio.

En cuanto al grupo de los agentes inmunosupresores que es el más estudiado, comprendiendo el Sirolimus (Rapamicina) y sus análogos el Tacrolimus, el Everolimus, el Zotarolimus (ABT 578) y el Biolimus A9 entre otros, obviamos su descripción pues no es objeto de este proyecto.

Agentes Antineoplásicos

La semejanza entre la proliferación de la neoíntima después de las intervenciones vasculares y el crecimiento tumoral sugirió la línea de tratamiento de que los agentes citotóxicos podrían ser utilizados en la prevención de las reestenosis.

Dentro de los productos empleados de este grupo están el paclitaxel, actinomicina D, mitomicina, vincristina, metotrexato, taxano QP-2, angiopeptina y los oligonucleótidos antisentido C-myc, (Amar M Salam 2008).

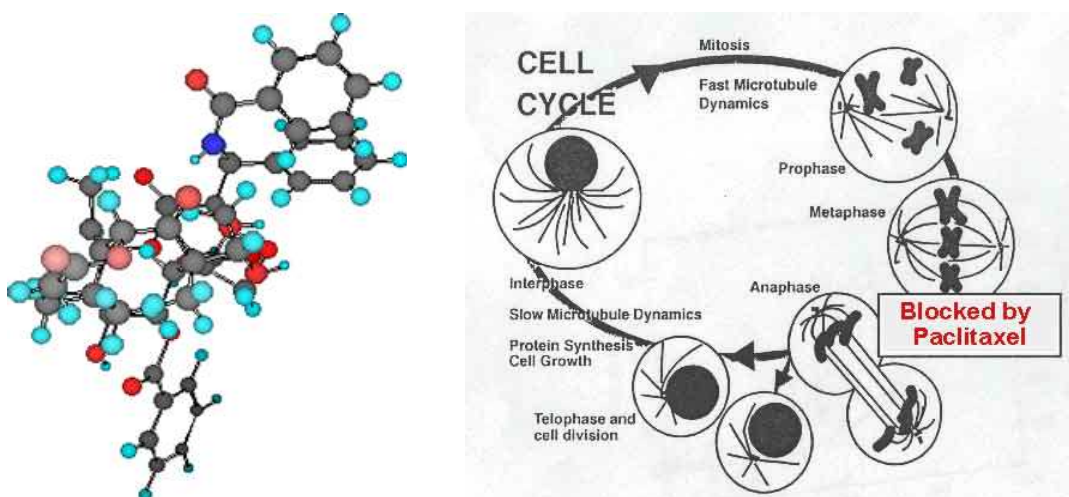
De todos ellos el más investigado es el Paclitaxel, que es un agente antineoplásico obtenido de la corteza del árbol *Taxus brevifolia* en 1967 y comercializado por la farmacéutica Bristol Myers Squibb en 1993 con el nombre de Taxol[®] (figura 3).

Figura 3. Árbol *Taxus brevifolia*.



Ejerce su acción a través de la inhibición de la migración y proliferación de los microtúbulos que frenan el ciclo celular en la fase M (figura 4). Se emplea en el tratamiento del cáncer de pulmón, ovario y mama. Es altamente lipofílico, insoluble en agua y tiene un efecto intracelular de larga duración. A altas concentraciones, como las prescritas en el tratamiento del cáncer, el fármaco es citotóxico, mientras que a bajas concentraciones, como las que se emplean en los SFA, es citostático (Kamath, 2006).

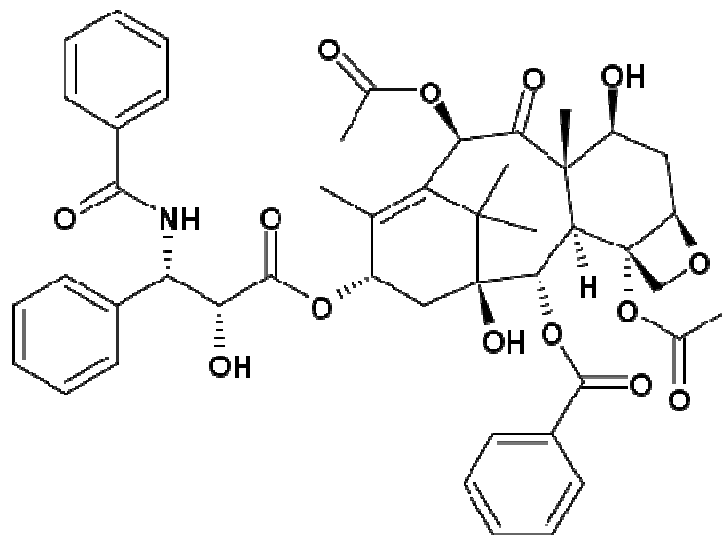
Figura 4. Paclitaxel. Estructura química y mecanismo de acción.



Aunque los rastros clínicos de fase I comenzaron en 1983, con un Taxol difícil de obtener, rápidamente los esfuerzos de investigación se encaminaron a obtener su síntesis y después de una década de investigaciones se consiguió la síntesis total por Holton y Nicolaou simultáneamente. Por otro lado las relaciones de la actividad de la estructura del taxol han sido estudiadas por multiplicidad de investigadores,

tanto en lo que se refiere a la cadena lateral como al esqueleto de la molécula de taxol (Potier y Swindell) (figura 5).

Figura 5. Estructura química del paclitaxel.



En general el paclitaxel inhibe específicamente a los microtúbulos, oponiéndose a su despolimeración. Como los microtúbulos están en los citoplasmas y núcleos de casi todas las células, este mecanismo afecta a numerosos procesos celulares, como la división, la motilidad, la secreción y la transmisión de señales (Wu K, 2001; Rowinsky, 1995), aunque de diferente manera dependiendo de la concentración.

Así en concentraciones bajas, la inhibición afecta sobre todo a las fases pre-mitóticas Go/G1 y G1/S, no produce citotoxicidad y sus efectos antiproliferativos y antimigratorios no se asocian a necrosis ni a la inducción de apoptosis (Giannakakou, 2001; Axel, 1997). En cambio en concentraciones altas, el fármaco es citotóxico, deteniendo el ciclo celular en la fase G2/M. y promueve la apoptosis.

Vistas sus propiedades el *stent* TAXUS[®] fue el primer SFA en emplear el paclitaxel como agente antiproliferativo. Recientemente han aparecido en el mercado otros *stents* que emplean paclitaxel: CoStar[®], Pico Elite[®], Axxion[®], Coroflex[®] Please[®] e Infinium[®].

Además de los inmunosupresores y antineoplásicos citados, otros fármacos antiproliferativos como antiinflamatorios (corticoides, pimecrolimus), vasodilatadores y antiplaquetarios (trapidil) e inhibidores de la migración (17-betaestradiol) se han utilizado en los SFA con resultados satisfactorios y no tan satisfactorios y que en cualquier caso no son de nuestro interés (tabla 1).

Esbozadas las diferentes estrategias de tratamiento y prevención de la reestenosis con especial referencia a los SFA, es de nuestro interés profundizar, como corresponde al título de este proyecto en el STENT, POLÍMEROS y FÁRMACOS DE RECUBRIMIENTO con mención preferente al PACLITAXEL.

2.4. DE LOS STENT, POLÍMEROS Y PACLITAXEL

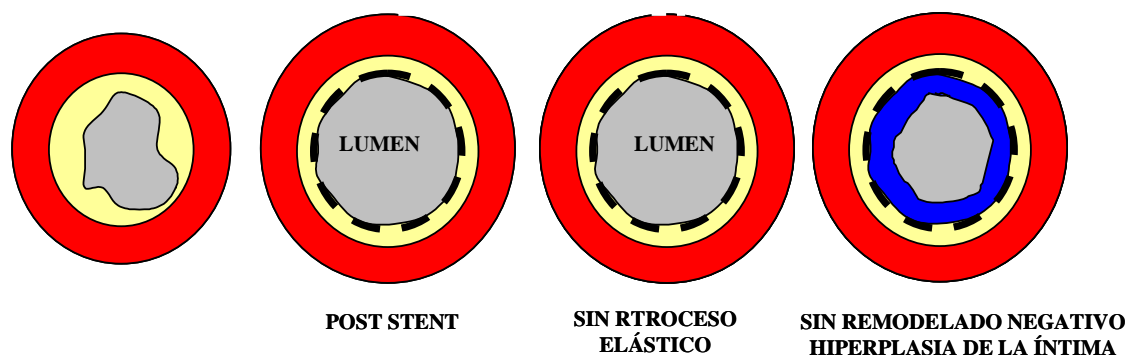
2.4.1. DE LOS STENT

El "stent" o cánula intraluminal es un pequeño tubo, habitualmente de malla de acero, autoexpandible o expandible con balón, que se coloca dentro de la arteria para mantener el vaso dilatado. Puede utilizarse durante una cirugía para injerto de una derivación (bypass, en inglés) para mantener dilatado el vaso injertado, después de una angioplastia con balón para prevenir que el vaso sanguíneo vuelva a cerrarse o durante otras cirugías.

A diferencia de los stents metálicos clásicos, los stents farmacoactivos (SFA), además del propio stent, incorporan otros componentes que añaden una gran complejidad al dispositivo: los fármacos antiproliferativos y el sistema de transporte y difusión de estos fármacos a la pared arterial. La combinación entre las características de la plataforma, la ausencia o presencia de los diferentes polímeros, los diferentes agentes farmacológicos y los procesos de ensamblaje final, tienen un enorme impacto en el comportamiento clínico de los diferentes dispositivos.

En general el stent coronario es un dispositivo mecánico que mantiene abierta la luz del vaso mediante el andamiaje del mismo. De esta manera, actúa sobre la fase mecánica de la respuesta vascular a la dilatación con balón, eliminando el retroceso elástico precoz y el remodelado negativo (figura 6).

Figura 6. Esquema de mecanismo de acción de un stent.



Ya desde su aparición en la década de los 90 se mostró superior en la aparición de reestenosis (ensayos STRESS (Fischman, 1994), BENESTENT (Serruys, 1994) y START (Betriu, 1994), por citar algunos) a la angioplastia con balón y se impuso como procedimiento de rutina, ya que además de mejorar el éxito inmediato del procedimiento haciendo la

técnica más segura, disminuía las necesidades de cirugía urgente de revascularización y obtenía resultados clínicos y angiográficos a largo plazo mejores que con la angioplastia tradicional. En la actualidad, alrededor de un 90% de los procedimientos comprenden la utilización de un stent coronario (Baz, 2008), pero con todo y debido a la complejidad de su diseño no existe el stent ideal, si bien, los diseños actuales han conseguido avances significativos, con ventajas e inconvenientes que deben ajustarse a las aplicaciones clínicas específicas (Serra-Peñaranda, 2007).

En la actualidad existen numerosos tipos de stents, que se diferencian por distintas características (tabla II):

TABLA II. CARACTERÍSTICAS DE LOS DISTINTOS TIPOS DE STENTS

- ◆ Estructura y diseño
 - ✓ Tubular ranurado, de celda cerrada
 - ✓ **Tubular modular, de celda abierta**
 - ✓ Tipo espiral (“coil”)
- ◆ Material con el que se construyen
 - ✓ **Acero inoxidable**
 - ✓ Tantalio
 - ✓ Nitinol (níquel-titanio)
 - ✓ **Aleaciones cromo-cobalto**
 - ✓ Revestidos con diferentes materiales
- ◆ Sistema de liberación
 - ✓ Autoexpandibles
 - ✓ **Expandibles con balón**

La estructura y el diseño les confieren propiedades especiales. Los de tipo espiral (Gianturco-Roubin®, Cardiocoil®, Wiktor®) poseen la mayor flexibilidad y pueden ser adecuados cuando se navegan por una rama colateral; no obstante, al ser deformables facilitan el prolapso de la placa. Los stents tubulares ranurados de celda cerrada (Palmaz-Schatz®, Nir®, Bx Velocity®) ejercen una mayor fuerza radial, sin embargo, su mayor rigidez longitudinal dificulta su avance en arterias con anatomía tortuosa y/o desfavorable. Representaron un buen balance entre una excelente fuerza radial y cierta navegabilidad por su flexibilidad en estado no expandido. La experiencia inicial con estos stents proporcionó buenos resultados clínicos, con excelente recubrimiento de la pared vascular en comparación con los de tipo espiral, pero con limitaciones importantes en la navegabilidad. Para mejorarla se desarrollaron stents más flexibles, los stents modulares de celda abierta, como el primer diseño Multilink® o el utilizado en nuestro proyecto. Estos stents además de dar un soporte adecuado a la pared arterial tienen buena flexibilidad, lo que les permite avanzar en territorios anatómicamente difíciles. Además, respecto a los de celda cerrada, presentan menor fuerza radial, menor cociente metal/arteria y menor radiopacidad y sin embargo poseen mayor flexibilidad, navegabilidad, conformabilidad y mayor resistencia a la fractura.

En cuanto al *sistema de liberación*, los que se colocan montados sobre balón son los más difundidos, por ser más fáciles de posicionar correctamente, aunque generan un mayor estrés parietal, y por tanto mayor proliferación celular. Una hipótesis no demostrada sugiere que los dispositivos autoexpandibles, que se expanden hasta el diámetro del vaso, cuando se eligen correctamente, podrían disminuir estos efectos desfavorables (Serryus, 1991).

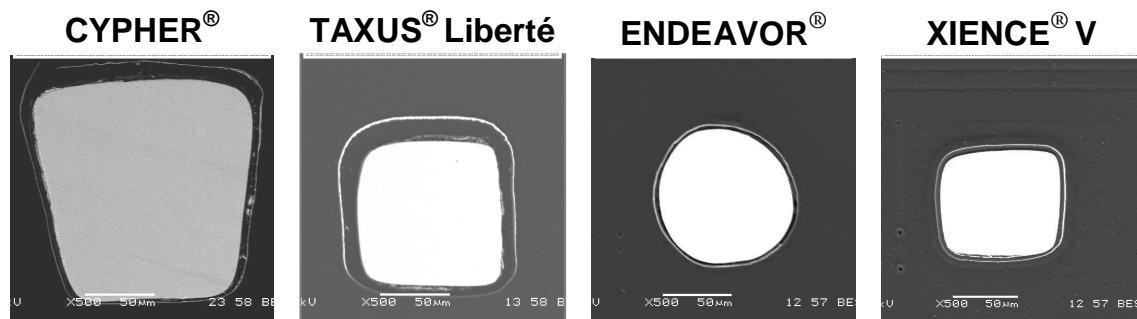
El *material* con el cual se construyen adquiere gran importancia, sobre todo en relación con su visibilidad radioscópica, necesaria para su colocación. Las aleaciones metálicas son los materiales más utilizados. El acero inoxidable 316L (hierro, cromo y níquel) y las aleaciones de cromo-cobalto son los materiales más empleados en los stents expandibles con balón, sin embargo el nitinol es el material de elección para los autoexpandibles, por sus características superelásticas y su capacidad de memoria.

Además de lo dicho, otros factores relacionados con el material deben tenerse en cuenta a la hora de elegir el stent, como son la resistencia a la corrosión, la biocompatibilidad, la fuerza radial y la radiopacidad por la importancia que tienen en la proliferación neointimal y en la supervivencia del stent. Así los defectos por corrosión se asocian con fracturas de los alambres de los stents, y se ha descrito una incidencia de fractura de hasta el 18,5%, en los casos de reestenosis de los SFA fabricados con acero inoxidable (Shaikh, 2006). La aleación de cromo-cobalto de las nuevas generaciones de SFA tiene un 45% más de dureza y densidad que el acero inoxidable, lo que permite reducir el grosor del alambre y ser más resistente a la fatiga y a la corrosión.

La biocompatibilidad del material del stent se relaciona se relaciona con la trombogénesis y la reacción inflamatoria (proliferación neointimal) y se ha comprobado que ciertos recubrimientos mejoran la biocompatibilidad, como la fosforilcolina del stent Biodivysio®, el silicio carbónico del stent Tenax®, el carbono de los stents Tecnic® y Chronos®, el titanox del stent Titan 2® o el tratamiento de superficie del stent Apolo Bionert® de nuestro proyecto.

En esta línea las nuevas generaciones de stents se han centrado en cambios para disminuir el grosor de los filamentos metálicos, reducir el perfil de cruce y mejorar la flexibilidad. En estudios experimentales se ha demostrado que cuanto menor es el grosor de los alambres, mejor es la endotelización (Simon, 2000). En el estudio ISAR-STEREO 2 (Kastrati, 2001) se demostró una menor pérdida tardía, una tasa de reestenosis inferior y una menor necesidad de tasa de revascularización al comparar un stent de alambres finos (Multinik®, 50 µm) con otro de alambres gruesos (Multilink Duet®, 140 µm). Además, la reducción del grosor de los filamentos metálicos mejora el andamiaje de la pared vascular, y la obtención de una luz más circular (figura 7) se asocia a un menor grado de hiperplasia intimal (Garasic, 2000).

Figura 7. Distintos tipos de celdas (visión fluoroscópica x 500).



En la primera generación de SFA encontramos un diseño de celda cerrada, el Cypher®, con plataforma Bx Velocity®, y un diseño de celda abierta, el Taxus®, con plataforma Express® (figura 7). En la tabla III podemos observar el grosor del alambre de los principales SFA (Serra-Peñaranda, 2007), incluyendo el Apolo P5/T®, motivo de nuestro estudio.

Tabla III. Grosor del alambre de los principales stents fármaco-activos

Stent	Grosor: μm	Grosor: pulgadas
Cypher [®]	139	0,0055
Janus [®]	110	0,0043
Taxus Liberté [®]	97	0,0038
Endeavor [®]	91	0,0036
Costar [®]	90	0,0035
Xience [®]	81	0,0032
Promus [®]	81	0,0032
Apolo P5/T [®]	114	0.0045

También debemos destacar que el diseño de la endoprótesis en celda abierta o cerrada afecta a la liberación del fármaco a la pared arterial, así la distribución homogénea o heterogénea de los alambres resulta en importantes variaciones en la liberación del fármaco hacia la pared arterial (Hwang, 2001) y si la implantación de un stent es en una lesión muy angulada, la mayor conformabilidad de un stent de celda abierta conseguirá una mayor aposición de éste a la curva interna, con mayor disponibilidad del fármaco, mientras que en la pared opuesta, en la curva externa, con menor recubrimiento de la pared por la separación entre coronas, habrá una menor disponibilidad del fármaco.

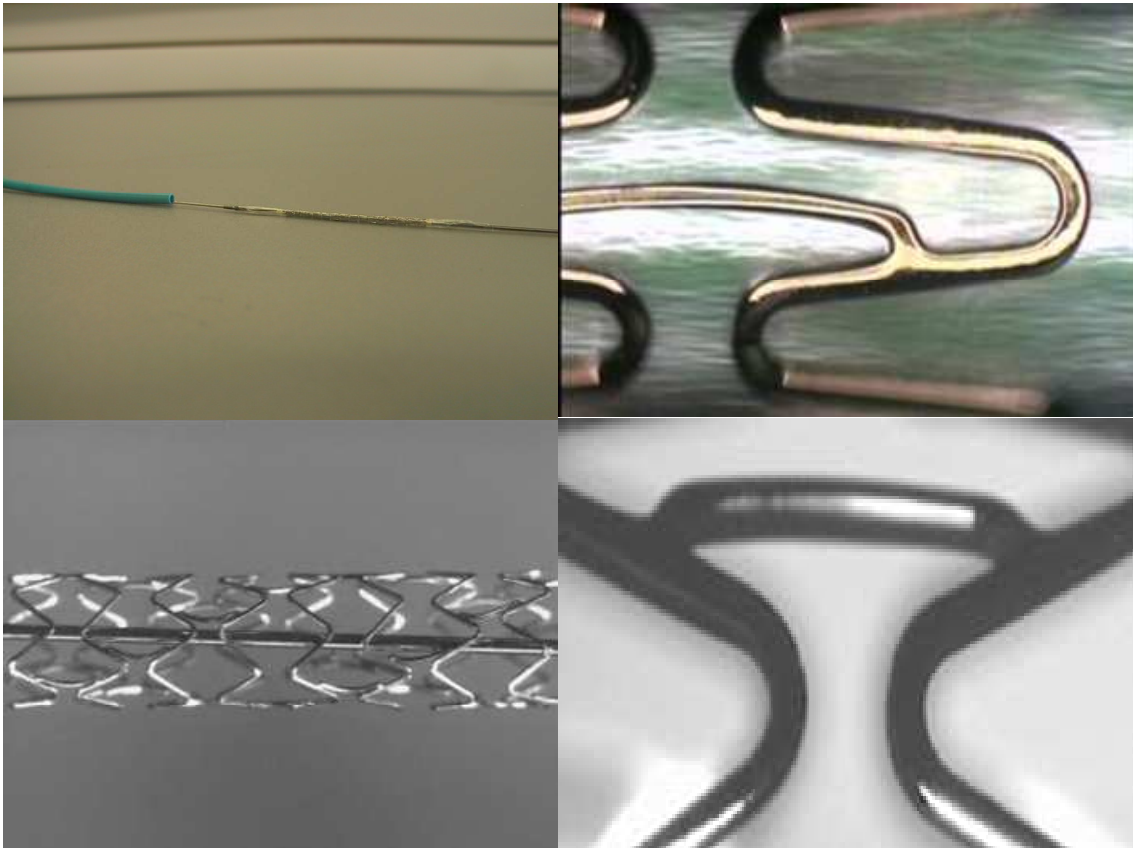
En la actualidad se están diseñando plataformas específicas para su utilización como SFA. Un ejemplo es el stent Conor[®], un stent de cobalto-cromo que dispone de orificios que actúan como reservorio en su superficie y permiten el depósito de uno o de varios fármacos.

Stent APOLO[®] (BARE)

El stent APOLO[®], (figura 8) es un stent de acero inoxidable quirúrgico 316 LVM modificado mediante implantación de iones oxígeno por deposición física de vapor. Los iones de oxígeno son implantados hasta una profundidad de 1 micra, de manera que no se obtiene un recubrimiento sino un tratamiento en el cual los iones penetran en la estructura metálica bloqueando la posible liberación de los iones de metales pesados (níquel, molibdeno). Las características de este procedimiento aseguran:

- ✓ No hay problemas de adhesión, ni deslaminación ni craqueo puesto que no hay recubrimiento.
- ✓ Estabilidad dimensional.
- ✓ Retención del tratamiento en el producto acabado.

Es un stent tubular, de celda abierta con puentes de conexión alternativos formando espiral. No ferromagnético y de radiopacidad moderada. El grosor del alambre de 0,0045 pulgadas y el acortamiento de expansión del 1%. La relación metal/arteria en el modelo de 3,5 mm de calibre por 18 mm de longitud, que es el utilizado en nuestro estudio, es del 14,4%. El stent está montado en un balón semidistensible con presión de despliegue de 7 atmósferas y presión máxima recomendada de 16 atmósferas (la presión media de rotura de 22 atmósferas).

Figura 8. Fotografías del stent Apolo®

2.4.2. DE LOS POLÍMEROS: FUNDAMENTOS Y TIPOS

Como a pesar de los progresos, la reestenosis continuaba siendo la principal complicación de los stents de metal, en los últimos años surgieron stents con cobertura de polímeros que sirven de base para transportar y liberar localmente distintos tipos de fármacos que inhiben la reestenosis. Luego su principal objetivo es distribuir de manera más uniforme y continua el fármaco en los tejidos, manteniendo las propiedades mecánicas del stent convencional, pues esta liberación local disminuye los efectos sistémicos del fármaco. Este hecho ha promovido una importante área de desarrollo en biomateriales (Abraham, 2004, Elvira, 2004, Revell, 1998).

En los SFA, el fármaco se incorpora a una matriz polimérica fijada sobre la superficie metálica del stent, que liberará el fármaco de forma controlada a la pared arterial y cuya disponibilidad está determinada no sólo por sus propiedades sino también por las características del polímero que lo contiene.

En general, los polímeros (del griego poly, muchos; meros, parte o segmento) son macromoléculas que se producen por la unión de moléculas más pequeñas denominadas monómeros, que constituyen enormes cadenas de formas muy diversas mediante una reacción química más o menos compleja denominada polimerización. Los polímeros tienen propiedades físicas y químicas diferentes; los que se obtienen industrialmente se llaman *homopolímeros o plásticos*, formados por la polimerización de monómeros iguales. Muchos monómeros también forman polímeros con pérdida simultánea de una molécula, como la del agua, la del monóxido de carbono o del cloruro de hidrógeno; estos *polímeros se llaman de condensación* y sus productos de descomposición no son idénticos a los de las unidades respectivas de polímero. Cuando de unen entre sí más de un tipo de monómero se denominan *copolímero*.

La taxonomía de los polímeros es diversa, según su origen se clasifican en naturales, artificiales y sintéticos. Los polímeros *naturales* provienen directamente del reino animal o vegetal, como la celulosa, almidón, caucho, etc. Los *artificiales* son el resultado de modificaciones mediante procesos químicos de ciertos polímeros naturales, como por ejemplo la nitrocelulosa o la etonita y los *sintéticos* (la mayor parte de los polímeros que usamos en la vida diaria), se obtienen por procesos de polimerización controlados por el hombre a partir de materias primas de

bajo peso molecular, como el nylon, polietileno, cloruro de polivinilo, polimetano, etc.

En los copolímeros sintéticos, lo que se busca es que cada monómero imparta una de sus propiedades al material final; así, por ejemplo, en el acrilonitrilo butadieno estireno (ABS), el acrilonitrilo aporta su resistencia química, el butadieno su flexibilidad y el estireno imparte al material la rigidez que requiera la aplicación particular. Evidentemente, al variar las proporciones de los monómeros o al modificar su posición dentro de las cadenas, las propiedades de los copolímeros también se van modificando. Así, los procesos de copolimerización permiten hasta cierto punto fabricar polímeros a la medida para aplicaciones específicas. De acuerdo a sus propiedades físicas se clasifican en: *elastómeros* y *termoplásticos* que cuando se calientan, se ablandan sin descomposición y pueden ser moldeados; y *termoestables* que forman materiales duros que no funden o lo hacen con descomposición y son generalmente insolubles en los solventes más usuales.

También los hay biodegradables y no biodegradables (bioestables) según Van der Giessen (tabla IV).

Tabla IV. Polímeros del estudio de Van der Giessen y col.

BIODEGRADABLES	NO-BIODEGRADABLES
Poliuretano	Ácido poliglicólico/Ac. Poli-L-láctico
Poli (dimetil)-siloxano	Policaprolactona
Polietileno tereftalato	Polihidroxibutirato/polibutileno
Poliortoéster	

En los *no biodegradables* su mecanismo de acción es la *disolución o difusión* del fármaco según el gradiente de concentración entre el polímero y los tejidos; mientras que los *biodegradables* liberan el fármaco a los tejidos durante la *degradación del mismo*. Aunque toda la materia se degrada con el paso del tiempo, el concepto de biodegradabilidad aplicado a los polímeros implica que éste se elimina en un corto período.

En la década del 90, el mayor impulso para estudiar los polímeros surgió por las complicaciones tardías tras el implante de stents no biodegradables: la atrofia de los tejidos, la formación de aneurismas y la reestenosis. Se realizaron pocos estudios uno de los principales fue el realizado por Van der Giessen y col. (Van der Giessen, 1996) con diferentes polímeros biodegradables y no biodegradables (tabla V).

Tabla V. Polímeros del estudio de Van der Giessen y col.

BIODEGRADABLES	NO-BIODEGRADABLES
Poliuretano	Ácido poliglicólico/Ac. Poli-L-láctico
Poli (dimetil)-siloxano	Policaprolactona
Polietileno tereftalato	Polihidroxibutirato/polibutileno
Poliortoéster	

Algunos de estos polímeros se utilizaron de recubrimiento de stents metálicos y fueron implantados en arterias coronarias de cerdo, demostrándose intensa inflamación y proliferación neointimal a las cuatro semanas.

No obstante la mayor parte de la investigación y el desarrollo de los polímeros se ha realizado en el terreno industrial y sólo una pequeña parte

en aplicaciones médicas: prótesis, cementos óseos, suturas, lentes oculares, recubrimiento de superficies, administración cutánea de fármacos y un largo etcétera. Sin embargo, la mayoría de polímeros empleados en los SFA actuales procede de los previamente existentes, aplicándolos a una nueva estructura, la pared vascular. Los fenómenos inflamatorios y las posibles consecuencias tardías de estos polímeros han provocado un intenso debate en el campo de la cardiología intervencionista que obliga con cierta urgencia a las empresas del sector a invertir en programas de investigación y desarrollo de polímeros y fármacos destinados de manera específica a su aplicación en el territorio vascular (Serra-Peñaranda, 2007).

Hace algunos años, el material biocompatible era aquel que causaba poca o ninguna reacción del tejido cuando era implantado (material inerte), mientras que en el concepto actual es que ese material debe generar una respuesta en el sitio de implante, pero sin gran inflamación y trombosis (Berntrand, 1998). En el caso de los stents, se habla de hemocompatibilidad ya que las células sanguíneas interactúan directamente con el stent o su cobertura (en el caso de stents recubiertos). Después de algunos minutos de implantado el stent, las proteínas de la sangre se adhieren a la superficie del mismo formando una capa única, de tal forma que unos materiales interactúan más con la albúmina mientras que otros interactúan más con el fibrinógeno, entre otras proteínas.

Idealmente, un polímero destinado a stent farmacoactivo debe reunir unas características mínimas:

1. Biocompatible (*hemocompatible*) e inerte con la pared vascular sin producir reacciones inflamatorias ni incrementar el riesgo de trombosis.

2. Elasticidad para soportar la fuerza de expansión del stent sin que se produzcan fracturas o desprendimiento de partículas de polímero.
3. La cinética de liberación del fármaco desde el polímero a la pared arterial debe ser predecible y modulable en tiempo y dosis.
4. No alterar la actividad química del fármaco que se le incorpora ni modificar las características estructurales del stent.
5. Inalterabilidad de sus propiedades fisicoquímicas y mecánicas por los procesos de manipulación y esterilización del producto final.

A su vez el fármaco se une al polímero mediante uniones no covalentes (uniones iónicas o de hidrógeno), como sucede en la mayoría de los SFA actuales, o mediante uniones covalentes con puentes de sulfuro o carbono-carbono. De igual forma la matriz polímero-fármaco se adhiere a la superficie del stent por técnicas de pulverización o inmersión.

POLÍMEROS NO BIODEGRADABLES O BIOESTABLES

Como comentamos anteriormente, en los polímeros no biodegradables, la difusión del fármaco se realiza por gradiente de concentración entre el polímero y el tejido. Una vez que el fármaco se ha liberado del stent y el efecto farmacológico desaparece, el polímero permanece en contacto con la pared vascular, pudiendo causar en mayor o menor medida fenómenos inflamatorios indeseables. La mayoría de SFA de las primeras generaciones disponibles en el mercado utiliza este tipo de polímeros como transportador y dispensador del fármaco. Actualmente existen muchos stents con polímeros no biodegradables como el stent Cypher® (Cordis, Miami Lakes, FL, Estados Unidos), el stent Taxus® (Boston Scientific, Natick, MA, Estados Unidos), el stent ENDEAVOR® (Medtronic, Minneapolis, Estados Unidos), el stent XIENCE V® (Abbott

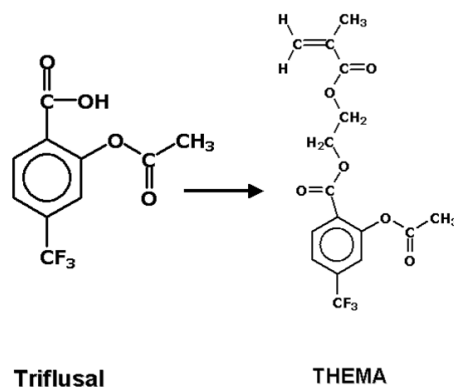
Vascular, Illinois, Estados Unidos), el stent IRIST[®] (Iberhospitex, Llicà de Vall, Barcelona, España), o el stent Apolo[®] P5/T. Por interés en nuestro proyecto, nos referiremos al stent Apolo[®] P5/T, al stent IRIST[®] que comparte el mismo polímero y al stent Taxus[®] liberador de paclitaxel.

Stents P5, P5/T^{1/2} y P5/T1

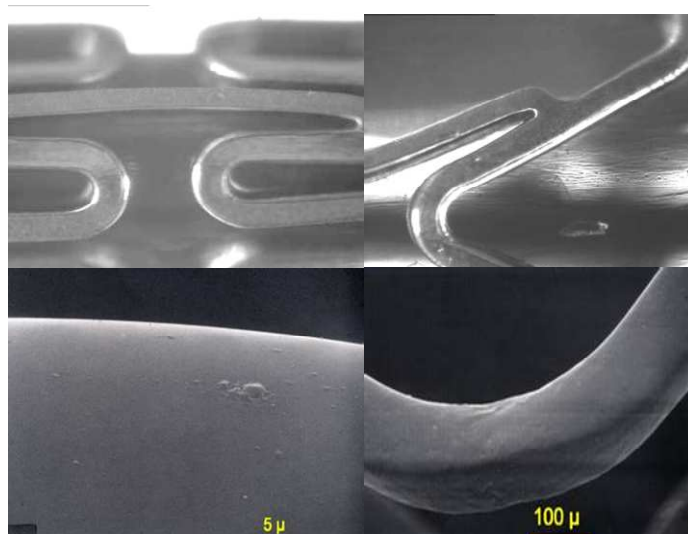
(Stent APOLO[®] con recubrimiento de polímero P5[®], stent APOLO[®] con recubrimiento de polímero P5[®] y paclitaxel a dosis de 0,17 µg/mm² y stent APOLO[®] con recubrimiento de polímero P5[®] y paclitaxel a dosis de 0,32 µg/mm², respectivamente).

Están basados en la plataforma del stent Apolo[®] (producto de Iberhospitex con marcado CE), al cual se le ha aplicado un recubrimiento polimérico (P5: polímero acrílico portador de triflusal. Uriach Coated-Stents as Drug Delivery Systems. UCOSDESY) y paclitaxel en dos dosificaciones distintas.

El **Polímero 5** es fruto de la estrecha colaboración entre el Grupo Uriach, el Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros del CSIC (Madrid) y la empresa Iberhospitex. Gracias a esta sinergia se ha desarrollado y patentado este nuevo polímero que presenta la original característica de estar realizado a partir del fármaco antiagregante triflusal y que se *diseñó específicamente* con el objetivo de su aplicación en prótesis óseas y cardiovasculares. Concretamente, el polímero 5 se sintetiza a partir de un monómero metacrílico portador de Triflusal ((2-acetoxi-4-trifluorometil) benzoato de metacriloiloxietilo), THEMA (figura 9), y de acrilato de butilo, con una proporción en peso de ambos monómeros 70/30.

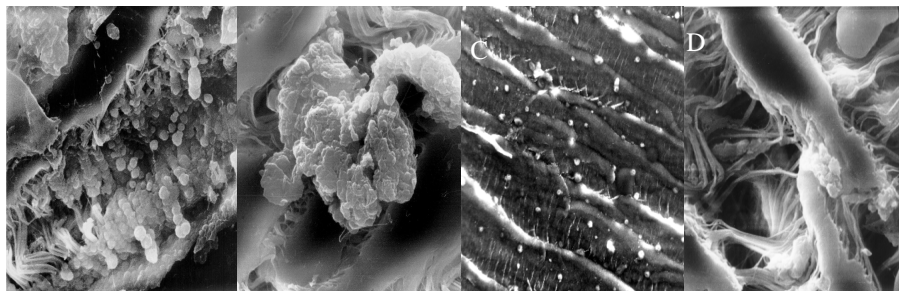
Figura 9. Polímero P5[®]

Este copolímero es altamente biocompatible y muestra unas interesantes propiedades de estabilidad, homogeneidad y flexibilidad que lo hacen idóneo para el recubrimiento de stent coronarios, y así, desde el año 2001, se ha estado investigando para su aplicación al recubrimiento de stent coronarios como plataforma liberadora de fármacos. P5, P5/T¹/₂ y P5/T¹ están formados por la combinación del stent coronario metálico APOLO[®] y un recubrimiento de polímero 5 (P5), utilizado el conjunto como plataforma liberadora de dos diferentes dosis de paclitaxel (P5/T¹/₂ y P5/T¹) (figura 10).

Figura 10. Fotografías del stent P5/T.

La utilización de polímero 5, formado a partir de un fármaco con un potente y probado perfil antiagregante (triflusal), en el recubrimiento de los stent supone una innovación en el abordaje de este problema, ya que permite la generación de un entorno antiagregante en el sitio de implantación del stent (figura 11).

Figura 11. Comportamiento antiagregante polímero 5. A, B depósito de plaquetas sobre control (Dacrón) y C, D sobre polímero P5[®].



Además, el triflusal inhibe la activación de factores proinflamatorios (activación de factores de transcripción como el NF-kB o el NF-AT; expresión de enzimas como la COX-2 o NO sintasa entre otros), inhibe los procesos de diapédesis y activación leucocitaria o la secreción de citoquinas (Fernández-Gutiérrez, 2002; Badimón, 2003 y 2005; San Román, 2004).

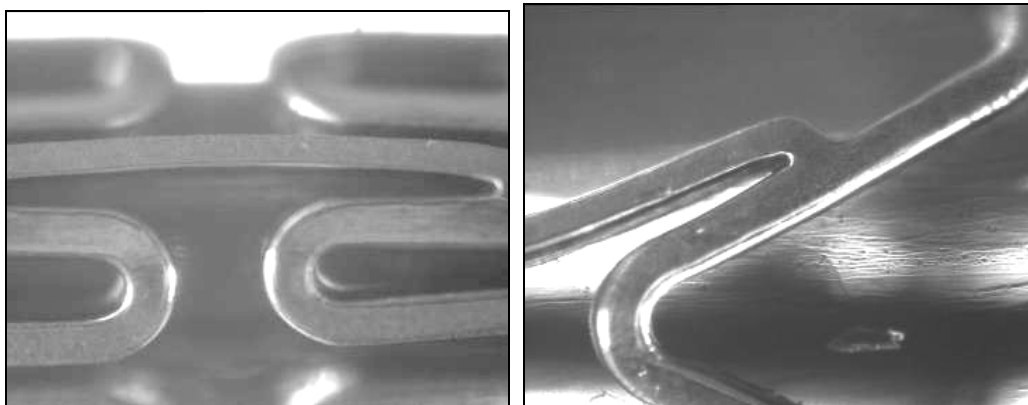
Nuestro grupo (Pérez de Prado y cols, 2009), presentó en el EuroPCR 2009, un estudio que compara en el modelo porcino el grado de endotelización y la respuesta inflamatoria a los 7 días del stent Apolo[®], del stent Apolo[®] recubierto con el polímero P5[®], del stent IRIST[®] (stent liberador de simvastatina con la plataforma Apolo[®] y polímero P5[®]) y del stent comercial TAXUS[®]. A los 7 días, la endotelización del stent Apolo[®], del P5[®] y del IRIST[®] fue del 97%, 97% y 98% respectivamente y la del

stent TAXUS® del 72%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. El stent APOLO® mostró una menor respuesta inflamatoria que el resto de los grupos (1%, 4%, 7% y 11%, respectivamente), siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Stent IRIST®

El stent IRIST® (Iberhospitex, Lliçà de Vall, Barcelona, España), cuyo primer estudio en humanos acaba de ser presentado, emplea el polímero P5 con liberación de simvastatina como fármaco antiproliferativo (figura 12). En el ensayo clínico IRIST, realizado por nuestro grupo (Betriu, 2009), se comparó el stent IRIST® (77 pacientes) frente al stent Apolo® (44 pacientes), con randomización 2:1 y seguimiento a 9 meses. Se demostró una restenosis binaria del 4,5% en el grupo IRIST® frente al 19,4% en el grupo APOLO (p = 0,02). Estos resultados, aunque preliminares, confirman la seguridad y la eficacia clínica del stent APOLO® y del stent APOLO® recubierto con el polímero P5® y simvastatina.

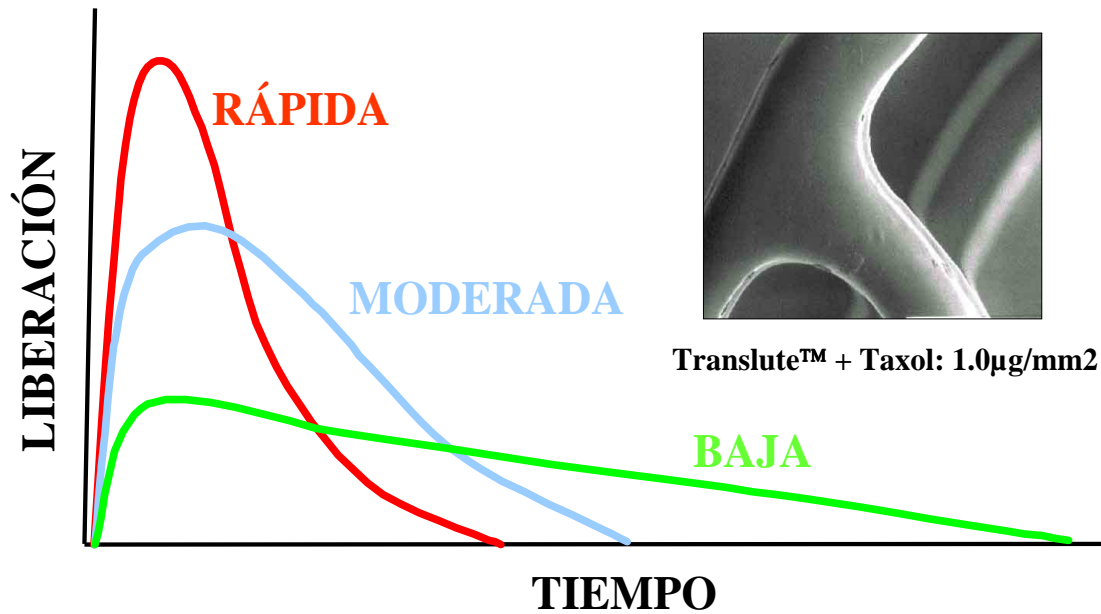
Figura 12. Tecnología Stent IRIST®. Matriz polimérica con triflusal y simvastatina



Stent Taxus[®]

En el stent Taxus[®] (Boston Scientific, Natick, MA, Estados Unidos) se emplea también un polímero no biodegradable denominado Translute[™], cuya composición es el copolímero tribloque SIBS (poli [estireno-b-isobutileno-b-estireno]). La compatibilidad vascular del copolímero SIBS se ha estudiado en el modelo animal porcino y ha mostrado un perfil de seguridad similar al de los stents metálicos (Heldman, 2001). La concentración de paclitaxel empleada en el stent Taxus[®] es de **1 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$** . En los diferentes estudios TAXUS se han empleado **2 formulaciones**, la de *liberación moderada* con una relación de peso fármaco/polímero del 25% y la de *liberación lenta*, con una relación del 8,8%. La de liberación moderada libera 3 veces más fármaco que la lenta en los primeros 31 días del implante (figura 13). Estudios in vitro muestran que la liberación del fármaco desde el polímero tiene un comportamiento bifásico; una fase rápida, en las primeras 48 h, seguida de una fase de liberación lenta y sostenida (Kamath, 2006). La cantidad de fármaco que se libera en la fase rápida es 17 veces mayor en la formulación de liberación moderada que en la lenta. La cantidad de fármaco que permanece secuestrado en el stent y no disponible para su liberación es del 92% en la formulación de liberación lenta y del 75% en la de liberación moderada.

Figura 13. Stent Taxus®. Distintas formulaciones de liberación (Polímero Translute™; dosis de Paclitaxel 1 µg/mm²).



POLÍMEROS BIODEGRADABLES

Se caracterizan por la presencia de enlaces éster (-CO-O-O) en la cadena principal. Los procesos de hidrólisis degradan los polímeros en moléculas de bajo peso molecular que pueden ser metabolizadas o absorbidas por el organismo. El medio fisiológico humano reúne las condiciones apropiadas para que estos procesos se puedan producir con facilidad en un tiempo razonable y en condiciones normales de pH entre 7 y 7,4. Los copolímeros de poliláctico (PLA), poliglicólico (PGA) y poliláctico-co-glicólico (PLGA) han sido ampliamente usados en forma de sutura biodegradable, en materiales de osteosíntesis y para liberación de fármacos.

Poliláctico

El poliláctico (PLA) es el dímero cíclico del ácido láctico y existe en forma de dos isómeros ópticos, el D y el L. El homopolímero derivado del monómero natural L-láctico (L-PLA) es un polímero semicristalino, tiene alta resistencia a la tensión y baja elongación, lo que hace al polímero muy adecuado para aplicaciones que tienen que soportar una carga, como las suturas y las fijaciones ortopédicas. El poli (D, L-láctico) o DLPLA es un polímero amorfo formado por los 2 isómeros del ácido láctico con una distribución aleatoria, lo que impide que la estructura sea cristalina. Este polímero tiene baja resistencia a la tensión, y alto poder de elongación con una elevada velocidad de degradación, lo que hace que sea un material muy atractivo para los sistemas de liberación de fármacos. Se degrada a ácido láctico, que entra en el ciclo de Krebs y se metaboliza de manera natural, rindiendo CO₂ y agua. Lincoff y col (Lincoff, 1994), en un modelo porcino, compararon la respuesta inflamatoria de tres stents: de metal con PLA, de metal con PLA y dexametasona y de metal sin cobertura ni fármaco; a las 4 semanas no hubo diferencias entre los tres grupos en el análisis histológico, lo que facilitó su posterior empleo en humanos. Este producto se emplea como polímero en diversas plataformas de SFA como BIOMATRIX[®], NOBORI[®] y AXXES[®]. El PLA también se emplea en la fabricación de stents totalmente biodegradables, como el de Igaki-Tamai[®] (Tamai, 1996; Tsuji, 2001) y el stent BVS[®] de Abbott Vascular.

Poliglicólico

El poliglicólico (PGA) es el poliéster alifático lineal más simple. Se utilizó para crear la primera sutura sintética totalmente absorbible,

comercializada como Dexon en los años sesenta. Las suturas de PGA son completamente absorbidas entre 4 y 6 meses.

Poliláctico-co-glicólico

Los copolímeros de glicólico con L-láctico y D, L-láctico han sido desarrollados para aplicaciones en sistemas liberadores de fármacos. Hay una relación entre la composición del copolímero y las propiedades mecánicas y de degradación de los materiales. Así, un copolímero con un 50% de glicólico y un 50% de D, L-láctico se degrada más rápidamente que cualquiera de sus homopolímeros puros. Los stents fármaco-activos CONOR[®], INFINIUM[®] y SUPRALIMUS[®] emplean este polímero.

2.4.3. DE LOS STENTS Y FÁRMACOS DE RECUBRIMIENTO

Si los polímeros como base para transporte y liberar un fármaco de un stent son múltiples y variados, más los son los stents comercializados con uno u otro polímero, fármaco, plataforma y material. En las tablas VI-VIII se muestran los SFA disponibles actualmente en el mercado, con el tipo de plataforma, fármaco empleado y estudios realizados y la figura 14 muestra la relativa potencia inhibidora de la proliferación neointimal expresada como pérdida tardía intra-stent de los diferentes SFA que disponen de marca de la Comunidad Europea (CE).

Tabla VI. Stents Fármaco-activos (SFA) con polímero bioestable, disponibles en la actualidad

SFA	PLATAFORMA	TIPO	FÁRMACO	ESTUDIOS
Sirolimus®	Bx Velocity®	A. Inoxidable	Sirulimus	Ravel, Sirius
Taxus®	Express, Liberté®	A. Inoxidable	Paclitaxel	Taxus I-VI
Endeavor®	Driver®	Cromo-Cobalto	Zotarolimus	Endeavor I-IV
Xience V®	Multilink Vision®	Cromo-Cobalto	Everolimus	Spirit I-IV
Pico Elite®	Arthos Pico®	Cromo-Cobalto	Paclitaxel	Applause
Zomaxx®	Trimaxx®	Inox + Tantalio	Zotarolimus	Zomaxx I-II
Irist®	Apolo®	A. Inoxidable	Simvastatina	Irist I
X-Cell®	R-Stent®	A. Inoxidable	17βestradiol	Ethos-I

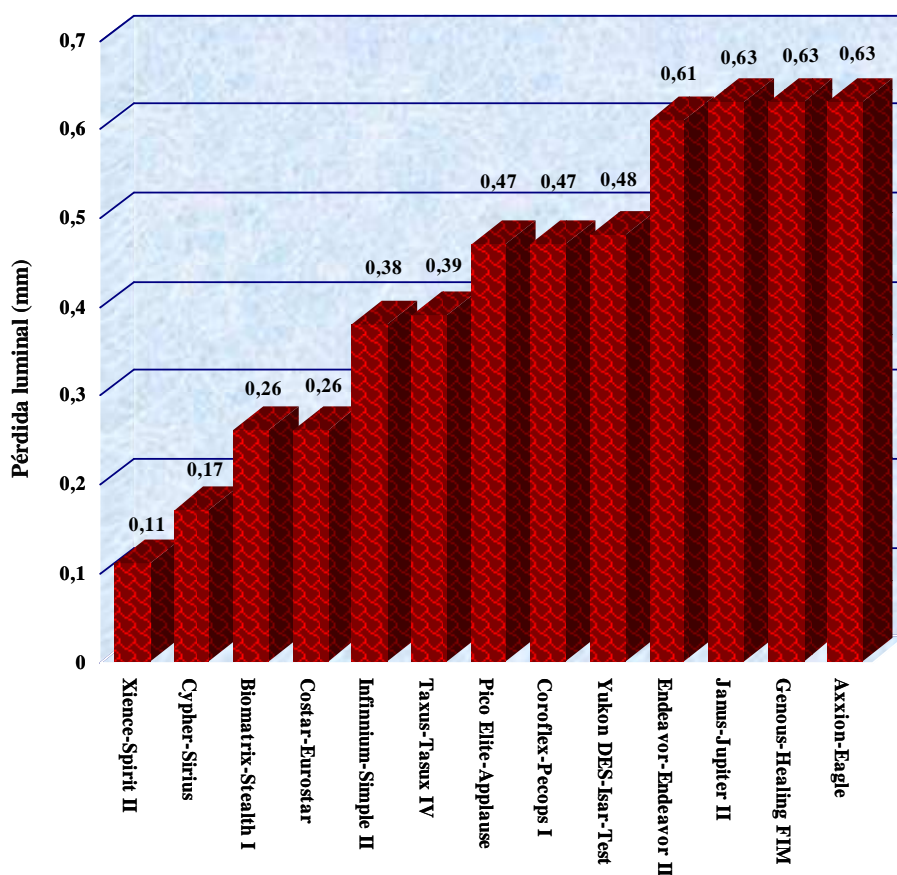
Tabla VII. Stents Fármaco-Activos (SFA) con polímero biodegradable, disponibles en la actualidad

SFA	PLATAFORMA	TIPO	FÁRMACO	ESTUDIOS
CoStar®	Conor®	Cromo-Cobalto	Paclitaxel	Pisces,CoStar
Corio®	Conor®	Cromo-Cobalto	Pimecrolimus	Génesis
SymBio®	Conor®	Cromo-Cobalto	Pimecrolimus	Experimental
Infinium®	Mill. Matrix®	A. Inoxidable	Paclitaxel	Simple I-II
Biomatrix®	S-Stent®	A. Inoxidable	Biolimus A-9	Stealth I-II
Nobori®	Nobori stent®	A. Inoxidable	Biolimus A-9	Nobori I
Supralimus®	Mill. Matrix®	A. Inoxidable	Sirolimus	Series I
Cura®	Constant®	A. Inoxidable	Sirulimus	Curami
Axxess®	Axxess®	Nitinol	Biolimus A-9	Axxess plus

Tabla VIII. Stents Fármaco-Activos (SFA) sin polímero, disponibles en la actualidad

SFA	PLATAFORMA	TIPO	FÁRMACO	ESTUDIOS
Janus®	Tecnic®	A. Inoxidable	Tracrolimus	Júpiter I-II
Yukon DES®	Yukon®	A. Inoxidable	Sirulimus	Isar Test
Axxion®	Nexus II®	A. Inoxidable	Paclitaxel	Tagle
Coroflex P®	Coroflex®	A. Inoxidable	Paclitaxel	Pecops I
Genous®	R-Stent®	A. Inoxidable	CD34	Healing I-II
Intrepide®	Intrepide®	A. Inoxidable	Trapidil	Destiny I

Figura 14. Potencia inhibidora relativa de la proliferación neointimal de los distintos stents fármaco-activos, expresada como pérdida luminal tardía intra-stent (*late loss*). Tras el nombre del stent se expresa el estudio que ha servido para su aprobación.



En resumen, muchas marcas comerciales pero poca variabilidad de fármaco a liberar. Son paclitaxel o sirulimus o derivados en la mayoría por unos pocos con 17- β estradiol, trapidil o CD34. Como nuestro interés se centra en el paclitaxel, a él nos referiremos fundamentalmente.

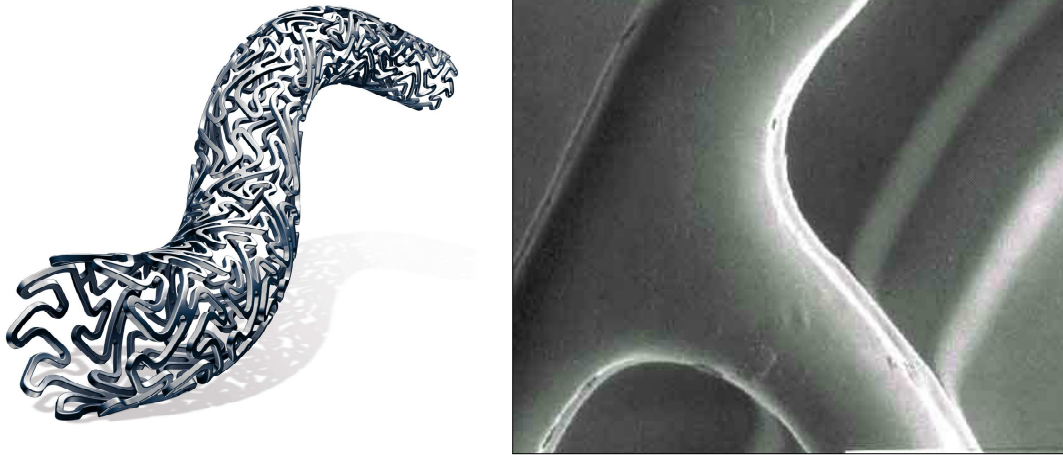
Stent TAXUS[®]

El stent TAXUS[®] es junto con el Cypher[®], el SFA mejor documentado en la literatura científica. *La plataforma* fue el stent NIR[®], de acero inoxidable y celda cerrada en los estudios TAXUS I, II y III (tabla IX). En el estudio TAXUS IV, V y VI (tabla IX) se cambió a una plataforma de celda abierta, el stent Express[®], y en la actualidad, esta plataforma ha sido sustituida por la del stent Liberté[®], con menor grosor de alambre y una geometría de celdas que mejora la navegabilidad (figura 15). *El polímero* es el Translute[®], que transporta y libera el fármaco paclitaxel con 2 tipos de formulación: moderada (MR) o lenta (SR).

Tabla IX. Programa clínico TAXUS

ENSAYO	PROPÓSITO	STENT PLATAFORMA	DOSIS FORMULACIÓN
TAXUS I	Factibilidad	NIR [®]	SR
TAXUS II	Seguridad y eficacia Marca CE	NIR [®]	SR & MR
TAXUS III	Reestenosis intrastent	NIR [®]	SR
TAXUS IV	Seguridad y eficacia Aprobación FDA	EXPRESS [®]	SR
TAXUS V	Eficacia en lesiones complejas	EXPRESS [®]	SR
TAXUS VI	Eficacia en lesiones complejas	EXPRESS [®]	MR

Figura 15. Stent Liberté® y Stent Taxus® con su polímero Translute®



La seguridad y eficacia del stent TAXUS® se ha analizado en los estudios TAXUS I, II, IV, V y VI, todos ellos aleatorizados, doble ciego, multicéntricos, que compararon el stent TAXUS® frente a stent metálico (tabla 9). El TAXUS III, fue un pequeño registro de tratamiento de la reestenosis intra-stent.

No obstante los ensayos con paclitaxel habían comenzado años atrás con los dos primeros estudios experimentales realizados por Sollot y col. (Sollot, 1995) en 1995, con el objetivo de disminuir la reestenosis, al evaluar el fármaco “*in vitro*” e “*in vivo*” en células musculares lisas (CML) de ratón, observando una reducción del 70% del área de formación neointimal a los 14 días. Posteriormente en el año 1997, Axel y col. (Axel, 1997) demostraron “*in vivo*” que el paclitaxel, ejercía un efecto inhibitorio potente, dependiente de dosis, sobre la migración y proliferación de CML extraídas de humanos; sin embargo las células endoteliales humanas son menos sensibles al paclitaxel que las CML cuando la concentración de la droga es pequeña (< de 1 umol/l), demostrando una característica particular

y beneficiosa, ya que el proceso de reendotelización del vaso es crucial para evitar el fenómeno de trombosis subaguda.

En esta línea otros estudios experimentales realizados en modelo porcino a principios de siglo (Herdeg, 2000; Oberhoff, 2001; Yasuda, 2002) demostraron la disminución de la reestenosis postangioplastia con el uso de paclitaxel intracoronario a altas concentraciones y difundido a la pared vascular a alta presión pero la aplicación práctica fue limitada por el rápido lavado del fármaco y su distribución no uniforme en la pared del vaso.

Estos estudios animaron la incorporación del paclitaxel al stent y así Dachman y col. (Dachman, 2000) demostraron en conejos que el stent revestido con polímero y paclitaxel (200 ug/stent) mantenía un nivel tisular deseado del fármaco a los seis meses y era efectivo para disminuir la hiperplasia neointimal a los seis meses. Resultados confirmados por Hong (Hong, 2001) quien evaluó en porcinos, el efecto del stent Gianturco-Rubin II[®] con polímero de hidrocarbonato aromático y paclitaxel, contra un grupo control solamente con polímero, hallando una significativa reducción de la reestenosis intra-stent (21% vs. 51%).

Un hecho importante a destacar es que la eficacia antiproliferativa del paclitaxel favorece la cicatrización inadecuada del endotelio vascular tras el implante de un stent, con el consiguiente potencial aumento de la trombogenicidad y formación de aneurismas locales (Axel, 1997). Investigaciones de Baumbach en 1999 demostraron que el número de monocitos/macrófagos (respuesta inflamatoria) en la neointima de las arterias que recibían un stent metálico disminuye significativamente a los seis meses, mientras que en el *stent* con paclitaxel persisten en gran

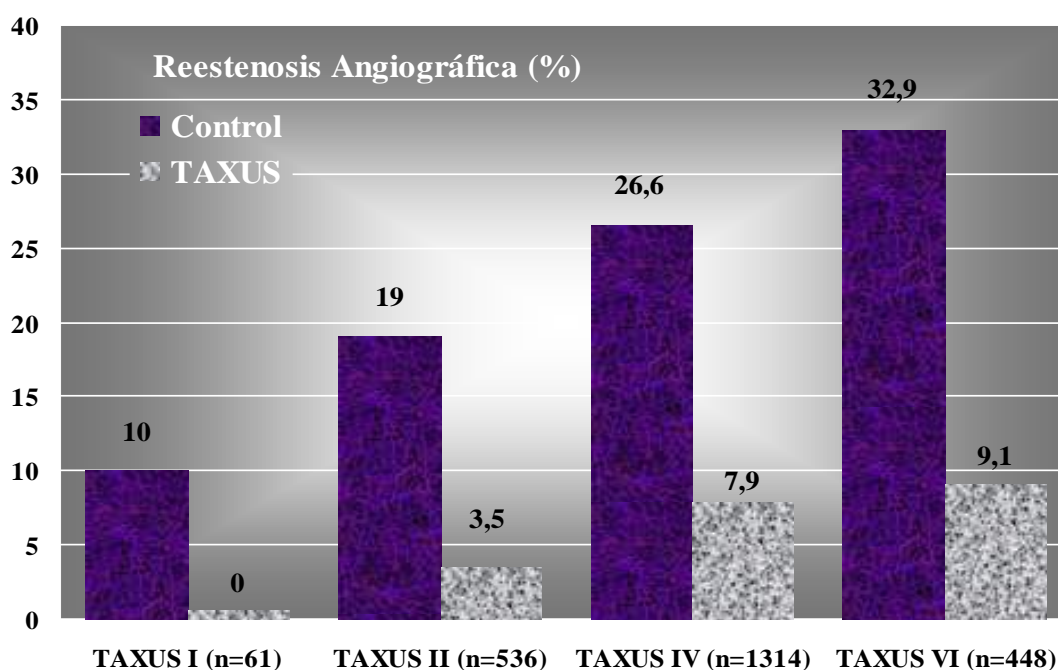
cantidad de macrófagos que impiden o retrasan la entotelización de la superficie del stent (Baumbach, 1999).

Los buenos resultados experimentales obtenidos con paclitaxel aconsejaron corroborar su seguridad y eficacia con ensayos clínicos. En este sentido en el estudio TAXUS I (Grube, 2003; Grube, 2005) se incluyeron a 61 pacientes con lesiones favorables (única lesión \leq de 12 mm de longitud y \geq de 3 mm de diámetro) y se comparó de forma aleatorizada la eficacia del stent TAXUS[®] (con plataforma NIR[®] y liberación lenta de paclitaxel a una concentración de 1,0 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$) frente al stent desnudo NIR[®]. A los 6 meses, la tasa de reestenosis binaria intra-stent fue del 0% para el grupo TAXUS[®] frente un 10% en el grupo de stent desnudo NIR[®]. La tasa de eventos coronarios, a los 12 meses de seguimiento, fue del 3,2 en el grupo TAXUS frente al 10% en el grupo NIR.

La eficacia de la liberación lenta del paclitaxel también la mostró el estudio TAXUS II (Colombo, 2003), en una muestra de 536 pacientes con lesiones similares a las del estudio TAXUS I, comparando la eficacia de 2 formulaciones distintas del stent TAXUS[®] (liberación moderada y liberación lenta), frente al stent desnudo NIR[®]. A los 6 meses, la reestenosis era del 2,3% en el grupo de liberación lenta, del 4,7% en el de liberación moderada, frente al 19% en el grupo de control (stent desnudo NIR[®]); así mismo el porcentaje de nuevos procedimientos de revascularización fue del 7,7, el 6,2 y 16% respectivamente. Además en este estudio se realizó seguimiento angiográfico y por ecografía intravascular a los 2 años, mostrando que la incidencia de aneurismas y aposición inadecuada del stent era muy baja y similar en todos grupos y que el beneficio en la pérdida tardía se mantenía estable a los 2 años de seguimiento (Tsuchida, 2007).

A partir de este ensayo se escogió y aprobó la formulación de liberación lenta para su uso comercial en Europa en 2003. En esta línea de conocer dosis y modo de liberación del paclitaxel, el ensayo PISCES (Serruys, 2005) con la plataforma del stent CONOR[®] (Conor Medsystems, Manlo Park, California) y un copolímero biodegradable de PLGA comparó seis grupos combinando dos dosis diferentes del fármaco (10 y 30 μg) y tres modos de liberación (5,10 y 30 días). Los mejores resultados se observaron con la dosis de 10 μg liberada en dirección parietal a lo largo de 30 días (liberación lenta), con una reestenosis binaria del 0% a los 4 meses.

Figura 16. Estudios TAXUS: reestenosis angiográfica (%).

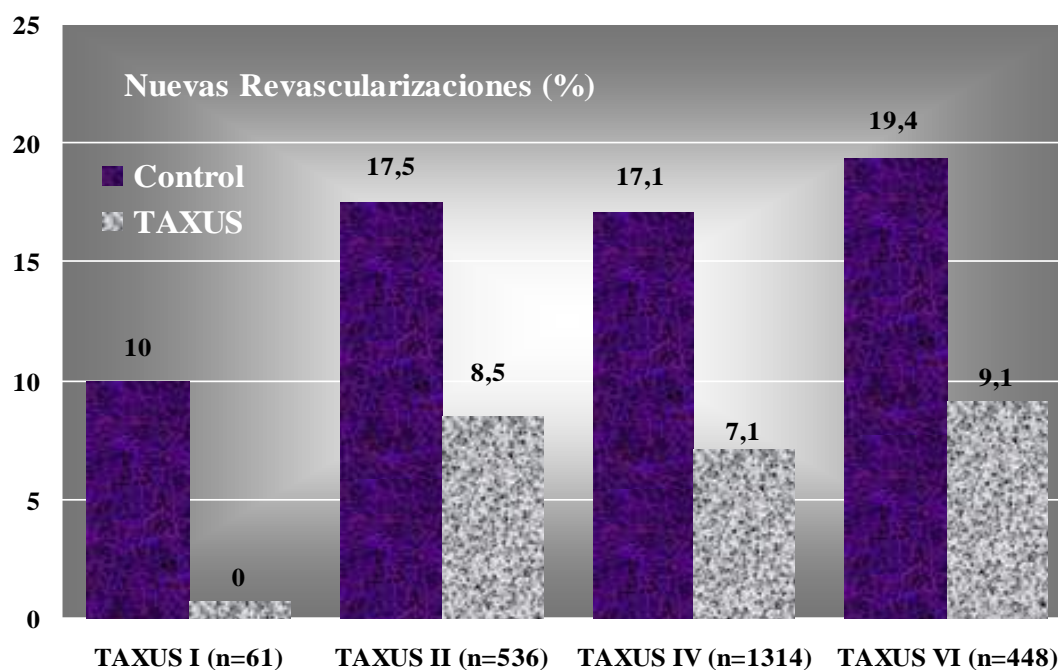


No obstante los ensayos TAXUS prosiguieron introduciendo novedades, así en el estudio TAXUS IV (Stone, 2004), se aleatorizaron 1.314 pacientes con lesiones de menos de 28 mm de longitud en vasos nativos de 2,5-3,75 mm de diámetro, para recibir el stent desnudo Express[®]

o el stent Taxus[®] (1,0 µg/mm², liberación lenta) con la misma plataforma y se encontró que el porcentaje de pacientes con reestenosis se redujo del 26,6 al 7,9% y la tasa de nuevas revascularizaciones del 17,1 al 7,1% a favor del stent recubierto con paclitaxel.

Teniendo en cuenta los estudios TAXUS I, II y IV (stent desnudo frente a stent con recubrimiento polimérico y paclitaxel), la tasa de reestenosis se reduce del 23,5 al 6,9% (reducción absoluta del 16,6% y relativa del 70,6%) y es necesario tratar a 6 pacientes para evitar una reestenosis (Moreno, 2005).

Figura 17. Estudios TAXUS: Nuevas revascularizaciones (%).



La eficacia del stent TAXUS[®] tanto en lesiones sencillas como complejas se vio confirmada en el TAXUS V (Stone, 2005) que aleatorizó a 1.172 pacientes con lesiones largas y complejas (10-46 mm de longitud en vasos de 2,25-4,0 mm) a recibir stent Taxus[®] de liberación lenta o stent

convencional desnudo (Express[®]). Aunque los resultados fueron mejores con Taxus[®] que con el stent convencional, la reestenosis (el 18,9 frente al 33,9%) y la tasa de nuevos procedimientos de revascularización (el 12,1 frente al 17,3%) fueron superiores a las observadas en los ensayos previos, con lesiones menos complejas.

En el estudio TAXUS VI (Dawkins, 2005) se aleatorizó a 448 pacientes con lesiones complejas similares a las del TAXUS V, pero a diferencia de éste, se empleó el stent TAXUS[®] de liberación moderada (que libera de 8 a 10 veces más fármaco en la fase inicial), frente al stent Express[®]. A los 9 meses del implante, los resultados fueron favorables al SFA, con una tasa significativamente menor de reestenosis (el 9,1 versus 32,9%) y de nuevas revascularizaciones (el 9,1 versus al 19,4%).

Asimismo en la reestenosis intrastent, los TAXUS[®] se muestran más efectivos que otras opciones como la braquiterapia. Así en el estudio TAXUS V ISR (Stone, 2006) con una muestra de 488 pacientes, con reestenosis del stent metálico convencional y tratados con *stent* TAXUS[®] o braquiterapia con radiación beta, se encontró que la reestenosis binaria y la tasa de nuevas revascularizaciones fueron significativamente menores en el grupo pacientes tratados con *stent* TAXUS[®] que los tratados con braquiterapia (el 14,5 frente al 31% y el 6,3 frente al 13,9% respectivamente).

Sin embargo en el contexto del infarto agudo de miocardio, parece que es indistinto el empleo de uno u otro stent, tal como muestra el estudio PASSION (Laarman, 2006) con una muestra de 619 pacientes tratados con stent TAXUS[®] frente a pacientes tratados con stent desnudo Express[®] o

Liberté[®], donde no se hallaron diferencias significativas en la tasa de nuevas revascularizaciones (el 5,3 frente al 7,8%).

Recientemente se ha intentado comparar stents con paclitaxel frente a stents con zotarolimus tal como el estudio ENDEAVOR IV que es un ensayo aleatorizado del stent ENDEAVOR[®] (Medtronic, Minneapolis, Estados Unidos) que tiene como plataforma el stent Driver[®] con un polímero de fosforilcolina y el fármaco zotarolimus, frente al stent TAXUS[®], con 1548 pacientes con distribución 1:1, del que no se disponen los resultados definitivos. Sin embargo si se tienen de su comparación con everolimus; así en el estudio SPIRIT II (Serrys, 2006), realizado en 26 centros de Europa, India y Nueva Zelanda, se comparó la eficacia y la seguridad del stent XIENCE V[®] frente al stent TAXUS Express[®] en 300 pacientes con distribución aleatoria 3:1. La pérdida tardía, objetivo primario del estudio, fue de $0,11 \pm 0,27$ mm para XIENCE[®] y de $0,36 \pm 0,39$ mm para TAXUS[®] ($p < 0,0001$). El stent XIENCE[®] V (Abbot Vascular, Illinois, Estados Unidos) está constituido por una plataforma de cobalto-cromo, el stent Multilink Vision[®], recubierto de un copolímero no bioabsorbible con everolimus y obtuvo la marca CE en octubre de 2006 para su distribución en Europa. En la misma línea en el ensayo SPIRIT III (Stone, 2008), cuya fase de inclusión de pacientes ya ha finalizado en centros de Estados Unidos y Japón, se comparan los *stents* XIENCE[®] frente a TAXUS Express[®] en 1.380 pacientes con una distribución 2:1. El primero obtuvo menor pérdida luminal tardía y menos eventos al año de seguimiento. Lo que confirma una mayor efectividad del stent con everolimus, como también los stents que llevan Biolimus A-9 tal como el primer *stent* NOBORI (Terumo Corporation, Tokyo, Japón) que tiene como plataforma el S-Stent[™], con un polímero de PLA y biolimus A-9 que recubre sólo la porción abluminal del *stent*; en el estudio NOBORI I de

fase 1 de no inferioridad frente a TAXUS se aleatorizó a 120 pacientes a recibir *stent* NOBORI (n = 85) o *stent* TAXUS Express (n = 35), en lesiones de novo < 25 mm de longitud, localizadas en vasos nativos de 2,5-3,5 mm. El objetivo principal era la pérdida tardía intra-*stent* a los 9 meses de seguimiento. Los resultados, presentados en el Congreso TCT 2006, han resultado favorables al *stent* NOBORI, con una pérdida tardía de $0,15 \pm 0,27$ mm, frente a $0,32 \pm 0,33$ mm en el grupo TAXUS ($p < 0,006$), y un volumen de hiperplasia neointimal medida por ultrasonidos del 2,2 frente al 8,9% ($p < 0,02$). Igualmente, la tasa de nuevas revascularizaciones fue del 7 y el 11,4%, respectivamente. Por problemas de fijación del *stent* al balón durante la fase inicial del estudio, TERUMO cambió el S-Stent por un *stent* de fabricación propia, en acero inoxidable, sin modificar el polímero ni el fármaco, iniciando la fase 2 del estudio. En esta nueva fase se han aleatorizado a 240 pacientes a recibir un *stent* NOBORI con la nueva plataforma (n = 160) o TAXUS Liberté (n = 80). La fase de inclusión de pacientes terminó a finales de 2006.

Aunque se cambie la plataforma y el polímero, el paclitaxel no pierde su efectividad, así el *stent* PICO Elite[®] (AMG International GmbH, Raesfeld-Erle, Alemania) que tiene como plataforma el *stent* Arthos Pico[®], estructura en cromo-cobalto y recubierto con un polímero bioestable a base de polisulfona y el fármaco paclitaxel en una dosis de $1 \mu\text{g}/\text{mm}^2$, demostró en el estudio APPLAUSE (Grube, 2006) en el que se incluyeron tan solo 30 pacientes distribuidos aleatoriamente para recibir *stent* PICO Elite[®] (20 pacientes) o *stent* metálico Arthos Pico[®] (10 pacientes) que la tasa de reestenosis era significativamente menor (el 5 frente al 40%). con el *stent* recubierto de paclitaxel.

O incluso sin polímero tal como el *stent* AXXION™ (Biosensors International Group Ltd, Singapur), con marca CE desde julio de 2005, tiene como plataforma el *stent* Nexus II™ de acero inoxidable, con un grosor de alambre de 0,0043 pulgadas, acortamiento del 2,7% y un retroceso elástico del 1,2%. En su superficie abluminal no tiene ningún polímero y el fármaco es el paclitaxel, que se aplica directamente sobre esta superficie en una dosis de 2,5 μ g/mm²; además su superficie luminal está modificada por un glicocálix sintético biocompatible que favorece la endotelización. En el estudio EAGLE, que es el primer estudio realizado en humanos con este *stent*, se incluyeron a 129 pacientes con una distribución aleatoria 2:1 (86 pacientes con *stent* AXXION y 43 con *stent* no farmacológico NEXUS II). En el seguimiento a 6 meses, aunque los resultados fueron favorables para el AXXION, las diferencias no fueron significativas en la incidencia de eventos coronarios adversos (el 11,6 frente al 14%), en la reestenosis angiográfica (el 21,5 frente al 22,9%) ni en la pérdida tardía intra-*stent* ($0,63 \pm 0,55$ frente a $0,57 \pm 0,54$ mm).

También sin polímero es el *stent* COROFLEX Please (B. Braun Melsungen AG, Melsungen, Alemania) que tiene como plataforma el *stent* modular COROFLEX de acero inoxidable 316L, con un grosor de alambre de 120 μ m, un acortamiento entre el 1 y el 3% y un retroceso elástico del 4,6%. No dispone de matriz polimérica, pero tiene un recubrimiento biocompatible denominado P-Matrix™. El fármaco es el paclitaxel en la misma dosis que en el *stent* TAXUS, 1 μ g/mm² de superficie de *stent*. Su eficacia y seguridad se han evaluado en el estudio piloto PECOPS-I, que incluyó a 97 pacientes con lesiones sencillas en arterias nativas o reestenóticas (diámetro de referencia $2,88 \pm 0,42$ mm; longitud media de las lesiones $10 \pm 2,9$ mm). El seguimiento clínico a 6 meses mostró un 8% de eventos cardíacos adversos (trombosis subaguda, 1,2%; infarto, 1,2%;

nueva revascularización, 5,7%). La pérdida tardía observada a los 6 meses de seguimiento angiográfico fue de $0,47 \pm 0,6$ mm, con una reestenosis binaria del 7,8%.

En otros ensayos se vio que los SFA de paclitaxel *sin polímero* reducen la proliferación neointimal, pero no tienen impacto en la evolución clínica. En el estudio ASPECT (Park, 2003) que comparó el stent Supra-G-stent[®] (Cook Inc) sin paclitaxel, con el mismo stent con dos dosis diferentes de paclitaxel (1,3 y 3,1 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$), aunque demostró diferencias significativas en la tasa de reestenosis (27, 12 y 4%, respectivamente), no hubo diferencias en la tasa de nuevas revascularizaciones (8,6, 6,9 y 10% respectivamente). En el DELIVER-I (Lansky, 2004) se aleatorizó a recibir stent Achieve (Cook Inc) recubierto de paclitaxel (3 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$) frente a stent convencional Multilik Penta[®] y tampoco se obtuvieron beneficios clínicos significativos. El estudio ELUTES (Gershlick, 2004) que comparó stents con cuatro dosis diferentes de paclitaxel frente a stent convencional no demostró beneficio clínico.

2.5. EL CERDO Y EL MODELO PORCINO EN EXPERIMENTACIÓN ANIMAL

En los últimos 30 años se ha producido un aumento de modelos de la especie porcina para estudios de investigación biomédica (Steen, 2003; Huang, 2005; Carter 1994, 2000; Lowe, 2001) debido a la similitud de la anatómica y fisiología entre la especie porcina y la humana, lo que facilita el estudio de las enfermedades que afectan al hombre (Swindle, 1994; Rodrigues, 2005).

Por un lado la anatomía torácica del cerdo es semejante a la humana, con algunas diferencias que no detallaremos. Por otro lado el corazón del cerdo, como es bien conocido por los anatomistas, tiene una morfología externa, de sus cavidades, válvulas y vascularización, casi idéntica al hombre, excepto un grosor del miocardio desproporcionado al volumen de sus cavidades (figuras 18-19).

Figura 18. Pieza anatómica de un corazón porcino. Corte transversal a nivel basal

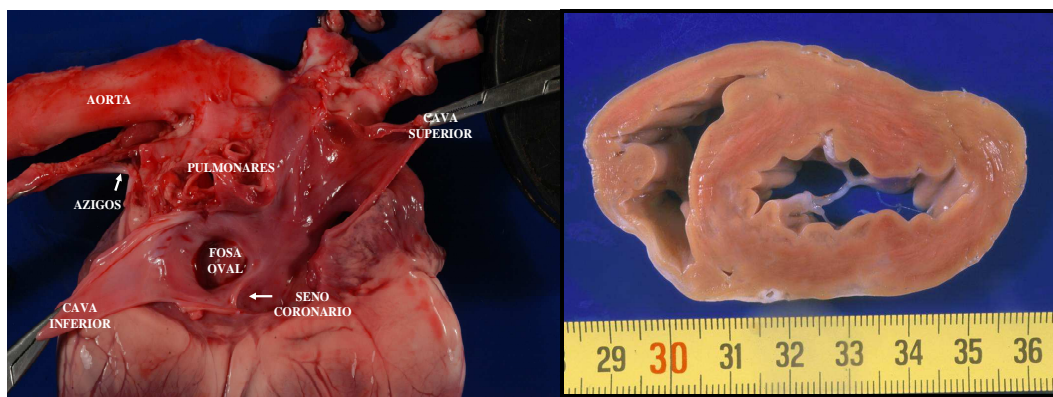
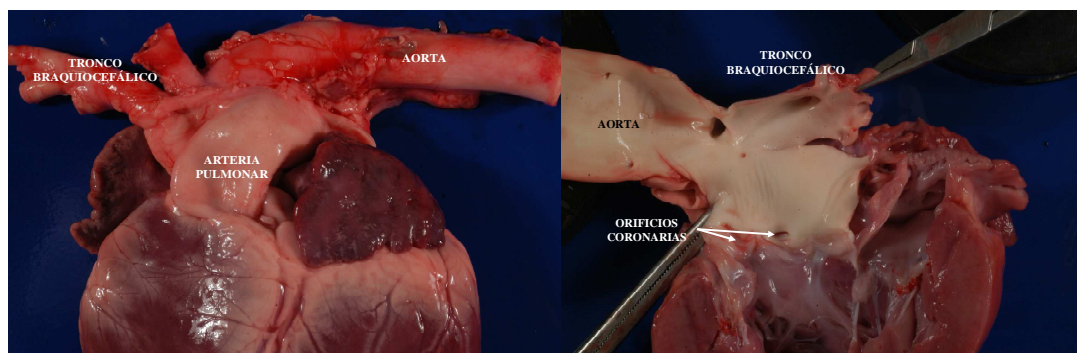


Figura 19. Pieza anatómica de un corazón porcino. Grandes vasos, troncos supraaórticos y ostium coronarios.



Así mismo el sistema coronario porcino es similar al humano, tanto desde el punto anatómico como fisiológico, en más del 90% (Escudero, 2001; Ronderos, 2001) e incluso hemodinámicamente la especie porcina es similar a la humana en cuanto a funcionalidad cardiaca. (Bloor, 1992; Kassab, 1994). Según Swindle 1986, la especie porcina tiene una fisiología cardiaca, una distribución de flujo coronario y un sistema de conducción cardiaco altamente similar al humano.

Esta similitud también se extiende al sistema de reparación tisular de las lesiones producidas a nivel miocárdico (Bloor, 1992; Gal, 1992; Swindle, 1998) y la respuesta proliferativa (reestenosis) tras la implantación de un stent intracoronario en el cerdo es similar a la que se produce en humanos (White, 1992; Swindle, 1998; Stanley, 2000).

En cuanto a la histología de los vasos sanguíneos (arterias musculares y coronarias) (Fawcett, 1999; Stevens, 1995) su arquitectura y composición celular general es igual en todo el sistema cardiovascular. Sin embargo, ciertas características de la vasculatura varían como reflejo de los distintos requerimientos funcionales en las diferentes localizaciones. De esta forma, las paredes arteriales son en general más gruesas que las venosas para poder soportar el flujo pulsátil y la presión más alta de las arterias.

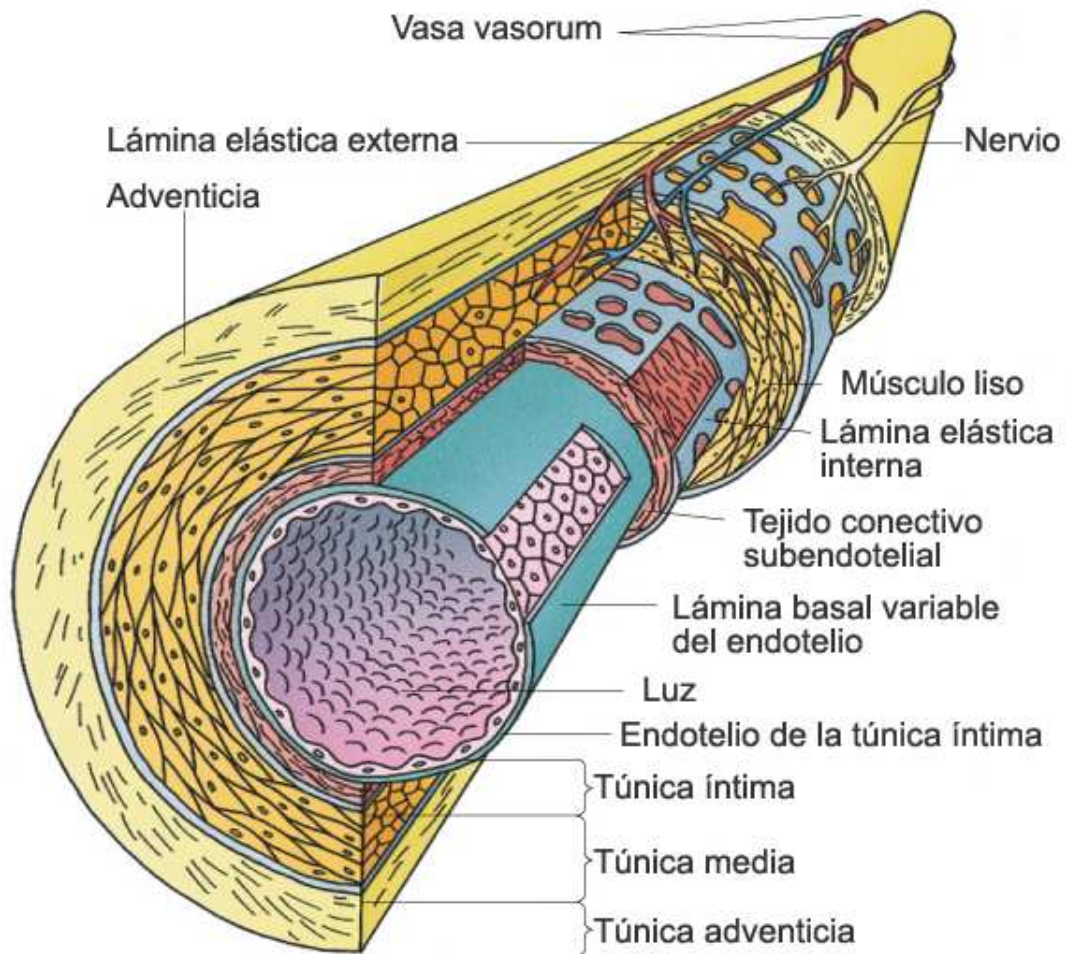
Las arterias musculares son vasos de distribución, que permiten el reparto selectivo de la sangre hacia distintos órganos en respuesta a las demandas funcionales, y constituyen la inmensa mayoría de las arterias del cuerpo. Se originan a partir de las arterias elásticas, las cuales van perdiendo de forma gradual, a medida que se alejan del corazón y ramifican, gran parte del componente elástico, representado por láminas

que aparecen en su túnica media, a la vez que se incrementa el número de células musculares lisas en esta capa.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, la estructura y composición celular de una arteria porcina muscular cuenta de (figuras 20 y 21):

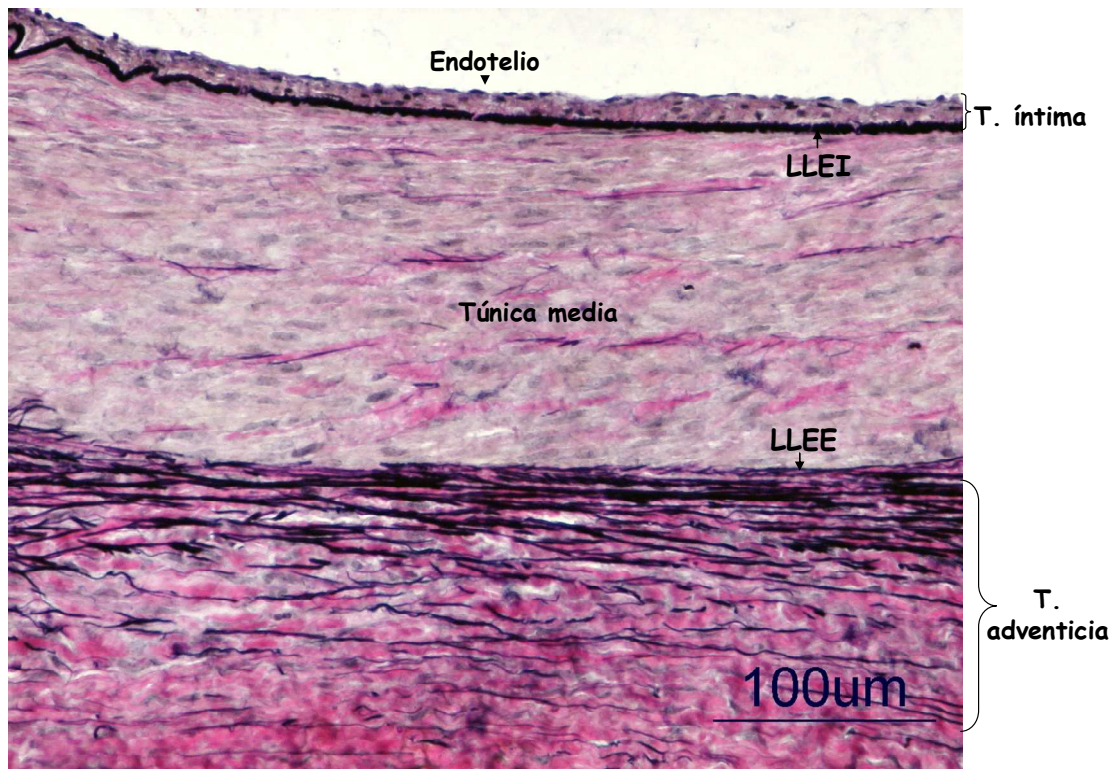
. **La túnica íntima**, en la que se identifica un endotelio constituido por una única capa de células planas, de forma alargada, y bordes poligonales, en cuyo citoplasma hace relieve su núcleo hacia la luz del vaso. Los orgánulos citoplasmáticos son escasos y se localizan principalmente en las áreas perinucleares. También se identifican en su citoplasma gránulos electrodensos, denominados cuerpos de Weibel-Palade, que mediante técnicas inmunohistoquímicas son positivos a un antígeno relacionado con el factor VIII de la coagulación, o factor de von Willebrand. Las células endoteliales se encuentran unidas entre si mediante diferentes sistemas de anclaje como son las uniones estrechas, uniones adherentes y uniones nexo o comunicantes. Desde su cara basal emiten prolongaciones citoplasmáticas, que se introducen por las fenestraciones de la lámina limitante elástica interna (LLEI) y se ponen en contacto con las células musculares lisas de la túnica media a través de uniones comunicantes. Una membrana basal diferenciada separa las células endoteliales del espacio subendotelial, el cual está constituido por una fina capa de tejido conjuntivo laxo con algunos elementos celulares conectivos. Este espacio se reduce hasta desaparecer a medida que disminuye el calibre del vaso. Generalmente, los elementos del interior de esta túnica se orientan paralelos al eje longitudinal del vaso (figura 20).

Figura 20: Esquema de una arteria muscular. Tomado de W.B. Saunders Company 2002.



. La separación entre la túnica íntima y la siguiente capa está representada por una **lámina limitante elástica interna (LLEI)** bien desarrollada, la cual presenta importantes fenestraciones, como se ha comentado anteriormente.

Figura 21. Histología de una arteria coronaria porcina (técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas).



. **La túnica media**, compuesta principalmente por células musculares lisas orientadas de forma circunferencial y dispuestas muy unidas en paquetes paralelos. Estas células de forma individual están rodeadas por una típica lámina basal, que presenta interrupciones, a través de las cuales se extienden prolongaciones celulares cortas que permiten poner en contacto células vecinas mediante uniones comunicantes. Estas uniones de baja resistencia son fundamentales para coordinar la contracción muscular a través de la túnica media. Las células musculares se rodean por un número variable de fibras de reticulina, colágeno, matriz extracelular y fibras elásticas con hendiduras irregulares, componentes todos ellos producidos por las mismas células musculares. La orientación de los elementos de esta túnica es opuesta a la de los componentes de la túnica íntima, es decir, se disponen perpendicularmente al eje longitudinal del vaso. Debido a que las arterias coronarias están sometidas a una presión

elevada tienen una túnica media más gruesa que otras arterias musculares, en las que esta capa es relativamente delgada (figura 20).

. Una red de fibras elásticas adyacentes a la túnica adventicia constituye **la lámina limitante elástica externa (LLEE)**, si bien esta peor definida que la LLEI y a menudo es discontinua.

. **La túnica adventicia**, constituida por fibroblastos diseminados entre fibras colágenas y elásticas, que adoptan una orientación longitudinal, y que se continúan con el tejido adiposo subepicárdico. En esta túnica se encuentran pequeños vasos sanguíneos (*vasa vasorum*) así como fibras nerviosas simpáticas y parasimpáticas del sistema nervioso autónomo.

Cuando las arterias porcinas se fijan para estudios, las células musculares lisas de la túnica media se contraen considerablemente y la sangre es expulsada de la luz. En consecuencia, la túnica íntima, la LLEI subyacente y la LLEE se arrugan en pliegues longitudinales. Por tanto, los perfiles transversales de las arterias musculares en la mayor parte de las preparaciones histológicas presentan una reducida luz que contiene poca sangre y una LLEI ondulada. Por otro lado el grosor de la pared arterial disminuye gradualmente conforme el vaso disminuye de calibre, pero la relación entre grosor parietal y diámetro de la luz se hace mayor.

Así mismo estas arterias tienen una gran capacidad de contracción y el grado de contracción (vasoconstricción) o relajación (vasodilatación) está controlado en parte por el SNA (sistema nervioso autónomo) y en parte por factores metabólicos locales e interacciones celulares.

Relatadas someramente la similitud entre la especie porcina y humana en cuanto al tema de nuestro interés, como son las arterias coronarias, *¿Qué otro motivo justifica la elección de un modelo porcino?*

Por un lado, existen diferentes modelos de reestenosis animal reconocidos por la comunidad científica y con los que se han realizado diversos estudios. Sin embargo, el modelo animal aceptado como estándar es el porcino (Schwartz, Chronos, Virmani, 2004) y no otro animal por los motivos siguientes:

Podía ser el ratón, pero no lo es debido a que tiene vasos arteriales muy pequeños y los métodos tradicionales de lesión mediante balón o stent no son prácticos. La lesión se debe producir mediante rotación de una pequeña guía de alambre que ocasiona lesión de la lámina elástica interna, con formación de trombos y respuesta proliferativa de la neoíntima variable en la zona de lesión.

El modelo de ilíacas de conejo hipercolesterolémico es un modelo estudiado ampliamente, en el que la lesión está causada por los niveles de colesterol en sangre en lugar de por lesión mecánica y aunque la estenosis desarrollada a nivel macroscópico y hemodinámico es semejante a la humana, tampoco es un modelo válido pues en la histopatología se demuestran gran cantidad de células espumosas que no son habituales en el modelo de neoíntima humana.

Sin embargo el modelo de lesión coronaria porcina, es un modelo aceptado pues las arterias coronarias de los cerdos domésticos responden de forma similar a la lesión en las arterias coronarias humanas. Con la

lesión mecánica, con balón o stent, se produce laceración de la media que se rellena de neoíntima a los 28 días; además el nivel de engrosamiento de la neoíntima es directamente proporcional a la lesión, lo que permite obtener respuestas directamente proporcionales a las terapias utilizadas. Tanto es así que un 90% de los estudios realizados con stent recubiertos, se han realizado utilizando el modelo porcino.

Seleccionado el modelo porcino, el lugar más adecuado para la implantación de un stent son las arterias coronarias: coronaria derecha y/o coronarias izquierdas circunfleja y descendente anterior, pudiéndose utilizar 1,2 ó 3 arterias por animal. El utilizar 3 arterias implica mayor riesgo de complicaciones o pérdidas del animal, pero a su vez permite utilizar menor número de animales, lo que lógicamente es más ético. Además el 95% de los ensayos preclínicos realizados en modelos porcinos con stent recubiertos que liberan fármaco, se ha utilizado un seguimiento de 28 días.

Así mismo el modelo porcino con periodo de implantación de 28 días es el adoptado como estándar para stents que estén recubiertos con todo tipo de polímeros (biodegradables y bioestables), y que liberan diversidad de fármacos. En esta línea este modelo evalúa correctamente la seguridad y la eficacia del producto. Así, se han evaluado stents liberadores de fármaco, que no han mostrado eficacia, no observándose disminución de la respuesta proliferativa neointimal. Por otro lado existe correlación directa de resultados (seguridad y eficacia) entre los ensayos preclínicos con el modelo porcino y periodo de implantación de 28 días y los ensayos clínicos humanos, ya que los stent recubiertos que liberan paclitaxel y sirulimus dieron seguridad y eficacia en los ensayos preclínicos con

modelo porcino a 28 días y del mismo modo han dado seguridad y eficacia en los ensayos clínicos humanos. Y todo ello a pesar del concepto no probado de que la evaluación de la eficacia y seguridad, requiere periodos de seguimiento elevados en el modelo porcino. Puesto que la clave para la evaluación es poder obtener una curación completa de la arteria, con reabsorción de trombos, inflamación residual mínima y endotelización completa o casi completa, se ha comprobado que la endotelización del stent en el modelo porcino se consigue alrededor de los 14 días postimplantación (equivale a 30 días en humano) y que la proliferación de la neoíntima en el modelo porcino con 28 días de seguimiento equivale a seis meses en la implantación de stents en humanos. Ello indica que con un periodo de 28 días evaluamos correctamente la eficacia y seguridad del producto.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La revisión de la bibliografía expuesta en el estado actual del tema nos ha permitido delimitar el campo de actuación, como la realidad del proyecto en cuestión y nos proporciona el soporte para formular la **HIPÓTESIS INICIAL, DE PARTIDA O DE TRABAJO:**

“El stent con polímero P5 y paclitaxel produce menor reestenosis que el resto de los stents en estudio”.

Formulada así la hipótesis inicial como una afirmación al campo teórico que debe ser contrastada para ser admitida o rechazada, y sin olvidarnos de ella y de lo que significa, preferimos no obstante de forma pragmática y reduccionista hablar de OBJETIVOS a conseguir, uno como principal o general y otros específicos u operativos entendidos estos como peldaños o escalones iniciales a lograr para alcanzar el objetivo general.

OBJETIVO GENERAL

Los stents fármaco-activos (SFA) con paclitaxel son eficaces en la prevención de reestenosis coronaria postratamiento.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS U OPERATIVOS

1. Señalar y describir los cambios y comportamiento de las arterias coronarias antes y después de la implantación de stents.

2. Mostrar y comparar la ocurrencia de estos cambios, modificaciones y comportamiento para cada uno y en los diferentes stents.
3. Medir y cuantificar la histomorfometría de las arterias coronarias en las proximidades del stent.
4. Determinar el tipo de daño vascular (IS) provocado, señalar las diferencias en cada grupo de stents y compararlo en cada grupo de stents.
5. Medir y cuantificar el grado de reestenosis provocado por cada uno de los stents, sin polímero, con polímero y con polímero con dosis baja y alta de paclitaxel.
6. Comparar los resultados obtenidos para cada stent, señalar si las diferencias son significativas e indicar cual es el más favorable para la reestenosis.
7. Determinar/explicar que arteria coronaria es la más afectada por la reestenosis para cada tipo de stent; comparar los resultados, mostrar su relación y explicar por qué.
8. Proporcionar información con alto nivel de evidencia científica a la Administración Pública y a la industria privada para tomar decisiones respecto a su uso en ensayos clínicos y comercialización.

Para dar respuesta a los objetivos e hipótesis planteados diseñamos un plan de investigación tipo:

Estudio experimental “in vivo” con datos independientes, a simple ciego, asignación aleatoria y cerdos como unidades experimentales.

Y que a través de todas sus etapas y en especial de la estrategia de recogida de datos nos permita admitir o rechazar la hipótesis inicial.

MATERIAL Y METODOLOGÍA

4. MATERIAL Y METODOLOGÍA

4.1. SELECCIÓN DE LA MUESTRA Y MODELO EXPERIMENTAL

La muestra fueron 20 cerdas de 25-30 Kgm. descendientes de un híbrido comercial blanco, provenientes de la Granja experimental de la Facultad de Veterinaria de la Universidad de León. Todo su manejo se realizó cumpliendo la legislación actual en materia de experimentación animal, tanto de la Unión Europea como Española y de las normas del Comité de Bioética de la Universidad de León.

En la selección del tamaño muestral se valoró el tener una muestra lo suficientemente amplia como para conseguir la robustez y fiabilidad estadística necesaria y por otro lado reducir en la medida de lo posible el número de animales utilizado. Para ello se propuso como objetivo de eficacia la disminución mínima del engrosamiento de la neoíntima de un 25% del stent recubierto con paclitaxel con respecto al stent sin paclitaxel, para lo cual se calculó que debían evaluarse un mínimo de 12 stents por cada grupo (8 animales). Además para valorar posibles diferencias entre las dos dosificaciones diferentes de paclitaxel se necesitarían 9 stents más en cada grupo (6 animales) y para establecer posibles diferencias entre los dos grupos sin paclitaxel 3 stents más en cada grupo (2 animales); también se calculó en un 25% las posibles pérdidas (4 animales). Por tanto se estableció el tamaño de la muestra en 60 segmentos arteriales (20 animales).

Antes de entrar en el estudio, los animales se pesaron y se les realizó una analítica control para comprobar su estado sanitario. Seleccionada la

muestrea los animales se estabularon en corralinas individuales una semana antes del comienzo de la angioplastia con temperatura regulada a 20°C, ciclo de luz-oscuridad de 12 horas (7.00-19.00 horas), alimento (pienso comercial de engorde) y agua ad libitum.

Previa a la anestesia se sometió a los animales a un ayuno de sólidos de 12 horas, sin ayuno de líquidos y el día previo al implante los animales fueron tratados con un régimen antiagregante consistente en 125 mg ácido acetilsalicílico (Aspirina Bayer®) y 300 mg de Clopidogrel (Plavix®).

4.2. PROCEDIMIENTO INTERVENCIONISTA: DISTRIBUCIÓN Y COLOCACIÓN DE STENTS

Antes de la colocación de los stents todos los animales se anestesiaron previa premedicación con 0,35 mg/kg de midazolam (Dormicum®), 5 mg/kg de ketamina (Imalgene®) y 0,02 mg/kg de atropina (Atropina Braun®), todo ello aplicado vía intramuscular. Una vez comprobado que el nivel de sedación era el adecuado se procedió a trasladar a los animales al quirófano, donde se realizó la venoclisis en la vena auricular marginal, empleando catéteres endovenosos de calibre 22G (0,9×25 mm) y se indujo la anestesia con propofol (Propovet®), a dosis de 2 a 4 mg/kg vía endovenosa lenta.

Tras la comprobación de relajación y ausencia de reflejos se procedió a realizar la intubación endotraqueal, aplicando ventilación controlada a todos los animales, en modo volumen control y manteniendo la anestesia con isoflurano (Isoflo®) al 2%.

Durante todo el procedimiento se hizo monitorización cardiovascular mediante pulsioximetría, electrocardiografía y medición de la presión arterial invasiva. Como medicación intraoperatoria se administraron 5000 UI de heparina sódica, 2,5 mg/kg de cefquinoma (Cobactan®) vía intramuscular como antibioterapia profiláctica y 0,01 mg/kg de buprenorfina (Buprex®) vía intramuscular como medida analgésica (figuras 22-23).

Figura 22. Técnica anestésica



Figura 23. Quirófano y equipamientos.

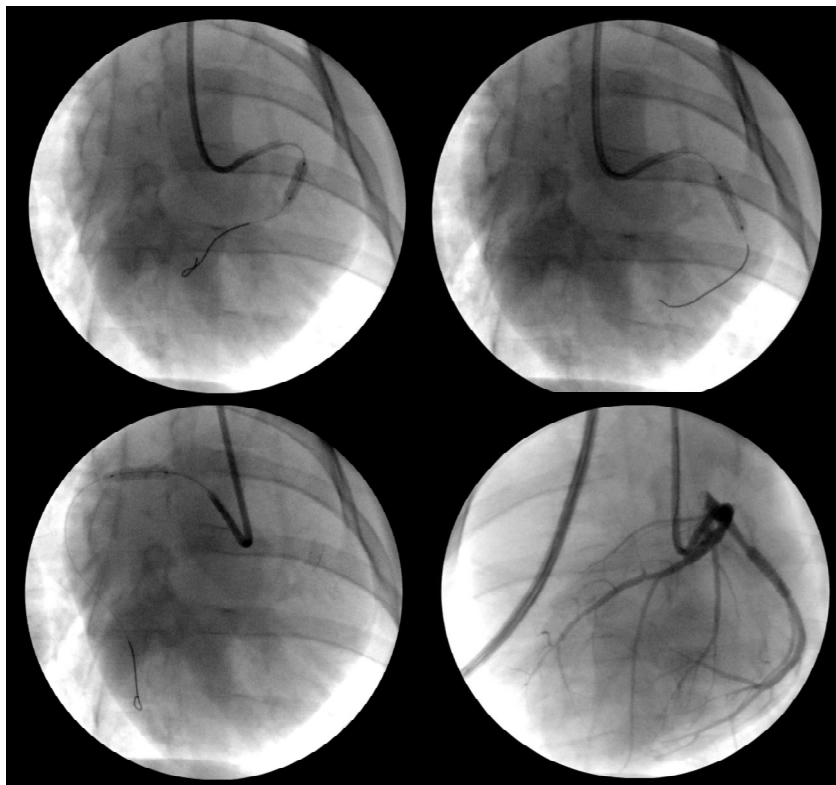


Completada la técnica anestésica se procedió a la colocación de los stents con la técnica y sistemática habitual. Guiados con visión fluoroscópica con un arco radiológico digital portátil (GE STENOSCOPI 828752G025) con grabación continua, y a través del introductor arterial de la arteria carótida derecha, se accedió a las arterias coronarias con un catéter guía (Amplatz modificado 3.5 F) especialmente diseñado (40 cm. de longitud) y con una guía de angioplastia. El extremo proximal del catéter se conecta a un sistema de angioplastia (alargadera de presión con rotor, llave en “Y”, llave manifold de tres válvulas y jeringa angiográfica). Por una de las válvulas de la llave manifold se monitoriza de forma continua la presión intraarterial, la segunda de ellas se utiliza para pasar medicación y la tercera se conecta a un sistema de gotero para contraste (figura 23).

A la hora de colocar los stents, a cada uno de los 20 animales se le implantaron tres stents, uno en la coronaria derecha, otro en la circunfleja y otro en la descendente anterior izquierda en los segmentos más proximales. Los stents fueron colocados por un único operador que desconocía que tipo

de stent se colocaba en cada arteria. Todos los stents implantados fueron del mismo calibre y longitud (3,5 x18) y se les aplicó en el momento del implante una presión de inflado del balón suficiente (entre 12 y 16 atmósferas) para alcanzar una relación diámetro del stent / diámetro de la arteria de entre 1,2/1 y 1,3/1, siendo la presión nominal del dispositivo de entre 6-8 atmósferas (figura 24).

Figura 24. Coronariografías postimplante.



En total se implantaron 60 stents distribuidos en cuatro grupos, siendo la adjudicación a cada una de las tres arterias aleatoria. La aleatorización de los cuatro diferentes grupos se muestra en la tabla X.

- ✓ Grupo 1. Stent APOLO® (Bare stent): 10 segmentos arteriales (stents). **GRUPO BARE.**
- ✓ Grupo 2. Stent APOLO® con recubrimiento de polímero P5®: 10 segmentos arteriales (stents). **GRUPO P5.**

- ✓ Grupo 3. Stent APOLO® con recubrimiento de polímero P5® y paclitaxel a dosis de 0,17 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$: 20 segmentos arteriales (stents). **GRUPO P5/T0,5.**
- ✓ Grupo 4. Stent APOLO® con recubrimiento de polímero P5® y paclitaxel a dosis de 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$: 20 segmentos arteriales (stents). **GRUPO P5/T1.**

Tabla X. Tabla de aleatorización de los 4 grupos de tratamiento. En **negrita** se representan las muestras perdidas durante la experimentación

<i>Nº Animal</i>	<i>Coronaria Derecha</i>	<i>Descendente Anterior</i>	<i>Arteria Circunfleja</i>
Animal 1	P5/T1	P5	P5/T0,5
Animal 2	BARE	P5/T0,5	P5/T1
Animal 3	P5/T0,5	P5/T1	P5/T0,5
Animal 4	P5/T1	BARE	P5/T0,5
Animal 5	P5	P5/T0,5	P5/T1
Animal 6	P5/T0,5	P5/T1	P5
Animal 7	BARE	P5/T0,5	P5/T1
Animal 8	P5/T0,5	P5/T1	BARE
Animal 9	P5	BARE	P5/T0,5
Animal 10	BARE	P5/T0,5	P5
Animal 11	P5/T0,5	P5	BARE
Animal 12	P5	BARE	P5/T0,5
Animal 13	BARE	P5/T0,5	P5
Animal 14	P5/T0,5	P5/T1	BARE
Animal 15	P5/T1	P5	P5/T0,5
Animal 16	P5	P5/T0,5	P5/T1
Animal 17	P5/T1	P5/T0,5	P5/T1
Animal 18	P5/T1	P5/T1	P5/T1
Animal 19	P5/T1	P5/T1	P5/T1
Animal 20	P5/T0,5	P5/T1	P5/T0,5

Las características del stent APOLO[®], del polímero P5 y del paclitaxel han sido descritos en el estado actual del tema.

Colocados los stents durante el postoperatorio se administraron diariamente 75 mg de clopidogrel, 100 mg de ácido acetilsalicílico y 20 mg/kg de ciprofloxacino por vía oral. Durante la intervención los principales acontecimientos adversos registrados fueron los espasmos arteriales, secundarios a la técnica o a la sobreexpansión del vaso con el stent, que en todos los casos se trataron con nitroglicerina. Se registró un episodio de fibrilación ventricular tras la implantación de un stent en una arteria coronaria derecha que se resolvió tras una descarga eléctrica de 200 julios. Respecto al despliegue, manipulación y visualización del posicionamiento del stent fue correcta en todos los casos y no hubo ningún problema ni en el desinflado del balón ni en la retirada del sistema de liberación. Así mismo todos los datos referidos al proceso, desde la entrada del animal hasta su sacrificio, incluyendo cualquier medicación o efecto adverso, se anotaron en un cuaderno de recogida de datos individual para cada animal.

4.3. PROCEDERES DE REGISTRO Y MEDIDA

SACRIFICIO DE LOS ANIMALES Y OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Colocados los stents en cada animal, al cabo de 28 días de seguimiento todos fueron sacrificados mediante la administración intravenosa del agente eutanásico T61[®] (0,3ml/kg; Intervet, España), previa sedación con midazolam (0,35mg/kg) y ketamina (5mg/kg) administradas vía intramuscular, siguiendo las directrices establecidas en el RD 223/98, de 14 de marzo, sobre protección de animales utilizados para

experimentación y otros fines científicos. Diez minutos antes del sacrificio, se suministraba una dosis de 10000 UI de heparina (Maine Farma), con el objetivo de prevenir la formación de coágulos en el interior de los vasos y facilitar la limpieza de los mismos.

Inmediatamente después de la eutanasia, se procedía a realizar la necropsia sistemática, ordenada y reglada, si bien, una vez abiertas ambas cavidades, se llevaba a cabo en primer lugar la extracción de los órganos de la caja torácica, con el fin de recoger las arterias coronarias rápidamente, evitando así posibles artefactos. De esta manera, se extraía en bloque el aparato cardio-respiratorio y, seguidamente, se separaba el corazón, cuyas arterias coronarias se perfundían *in situ* con PBS a una presión aproximada de 100-110mm Hg. Tras ello, se realizaba su disección de la superficie epicárdica, respetando los 5mm proximales y distales al stent, y se marcaba con un nudo de sutura el extremo distal, lo que permitía conocer su orientación una vez separadas de su localización en el corazón. A continuación, se procedía a su fijación en formol tamponado al 10% durante 24-48 horas a temperatura ambiente.

Después de ser recogidas las arterias coronarias, se realizaban cortes transversales del corazón, de aproximadamente 1cm de grosor, desde la base hasta la punta para determinar posibles áreas de isquemia u otras alteraciones. Una vez examinado el corazón, se proseguía la necropsia del animal y en aquellos órganos en los que se observaban lesiones macroscópicas se recogían muestras representativas, las cuales eran fijadas en formol tamponado al 10% para su estudio histopatológico.

ESTUDIO HISTOLÓGICO Y EVALUACIÓN HISTOMORFOMÉTRICA

Una vez fijadas las muestras, se procedió a su deshidratación e inclusión en bloques de resina Epoxy-Agar, según técnica habitual, e incubados en estufa a 60°C durante 48 horas para conseguir un endurecimiento uniforme. Por el contrario los órganos en los que se observaron lesiones macroscópicas, tras su fijación en formol tamponado, se incluyeron en parafina.

Con un microtomo de rotación modelo Leica RM2255® (Leitz, Stuttgart, Alemania), con adaptador porta-muestras universal de Leica y cuchillas de carburo de Leica TC-65® se obtuvieron un mínimo de 24 secciones por stent, de 7-8 μ de grosor correspondientes a 4 cortes por cada una de las 6 zonas en las que se dividió cada bloque. Posteriormente los cortes se situaban en un recipiente de agua caliente para facilitar su estiramiento y posterior procesado. De cada una de las seis zonas (tres de cada mitad), 1 ó 2 secciones se recogían sobre portas cargados eléctricamente (Fisherbrand®, Fisher Scientific, EEUU), y se añadía sobre ellas, con el fin de favorecer su adherencia, una gota de pegamento soluble diluido en agua. Al contrario, las muestras de órganos incluidas en parafina se cortaron mediante un microtomo de rotación 1512 (Leitz, Stuttgart, Alemania) con adaptador para casetes y cuchillas recambiables y fueron montadas sobre portas tratados con poli-L-lisina (Sigma Chemical Co, St. Louis, EEUU).

También tenemos que comentar que en 22 de las muestras arteriales se realizaron secciones de la zona de la arteria exterior al stent, en la parte proximal (a unos 2-3 mm del borde del stent), que utilizamos de “grupo control” (arteria sana).

Para su estudio histológico, las secciones de muestras así obtenidas se tiñeron mediante la técnica rutinaria de tricrómico de Masson. En aquellos casos en los que existían dudas sobre la integridad de la lámina limitante elástica interna se utilizó la técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas (figura 25). Como paso previo, se procedía a desplastificar las muestras, que habían sido recogidas sobre portas cargados eléctricamente, de acuerdo con la técnica de Maxwell (1977), en la que se hicieron modificaciones para optimizar el procesado posterior.

Figura 25. Arteria coronaria normal (Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas). Modelo porcino.



En los tejidos incluidos en parafina, las técnicas de coloración empleadas fueron: hematoxilina y eosina (H-E) y tricrómico de Masson.

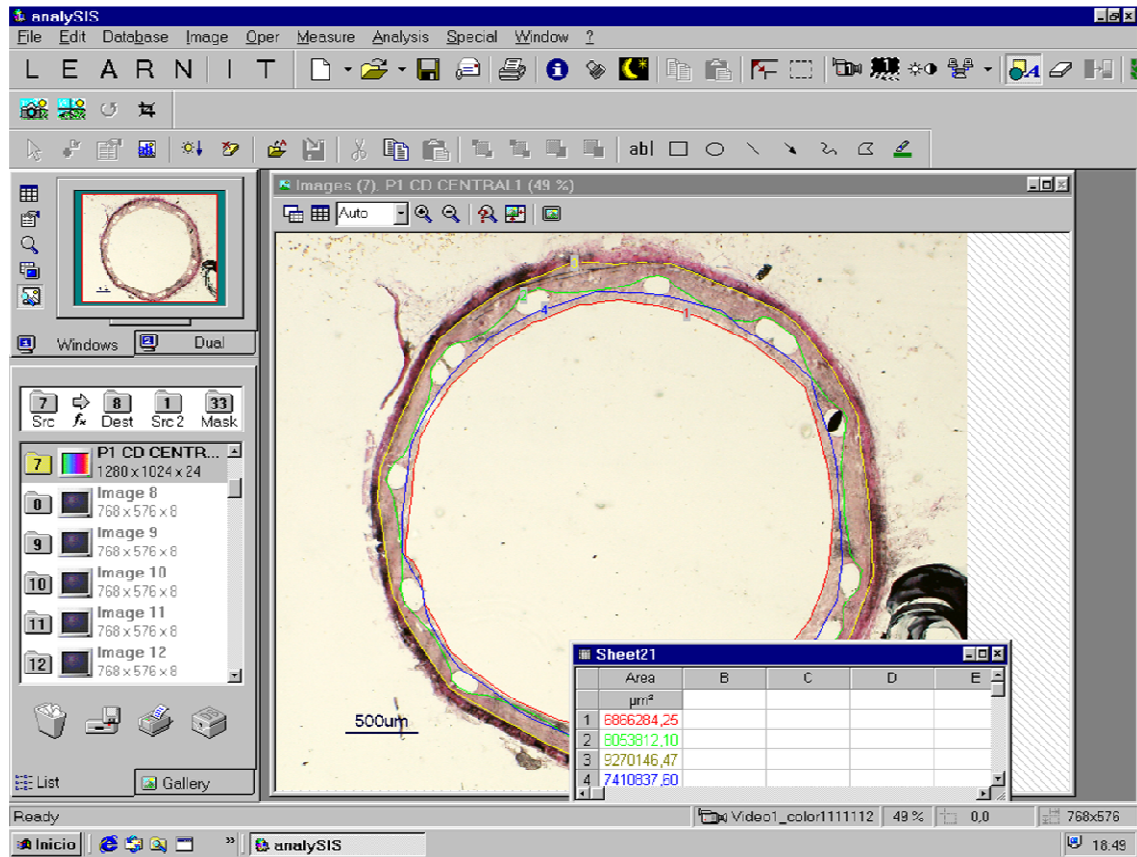
Una vez teñidas las secciones, con una u otra técnica, se deshidrataron mediante un gradiente creciente de alcoholes y dos pasos por xilol y se montaron en portas con DPX.

EVALUACIÓN HISTOMORFOMÉTRICA

El análisis morfométrico se realizó sobre las imágenes recogidas a un aumento fijo (x15), mediante un microscopio estereoscópico trifocal (Olimpus SZ61) con cámara digital incorporada, que a su vez estaba conectada a un ordenador. Para la adquisición de las imágenes, mínimo seis secciones de cada de la arteria, se utilizó las herramientas proporcionadas por un programa de análisis de imágenes (Image-Pro Plus 4.0, Media Cybernetics).

Previamente a cualquier medición, el sistema informático se calibró utilizando un portaobjetos graduado, cuya imagen se recogía con el mismo aumento con el que posteriormente se capturaban las imágenes de las arterias (x15). La calibración se realizaba siguiendo las instrucciones del programa informático y se almacenaba en el sistema para, posteriormente, aplicarse a todas las mediciones realizadas (figura 26).

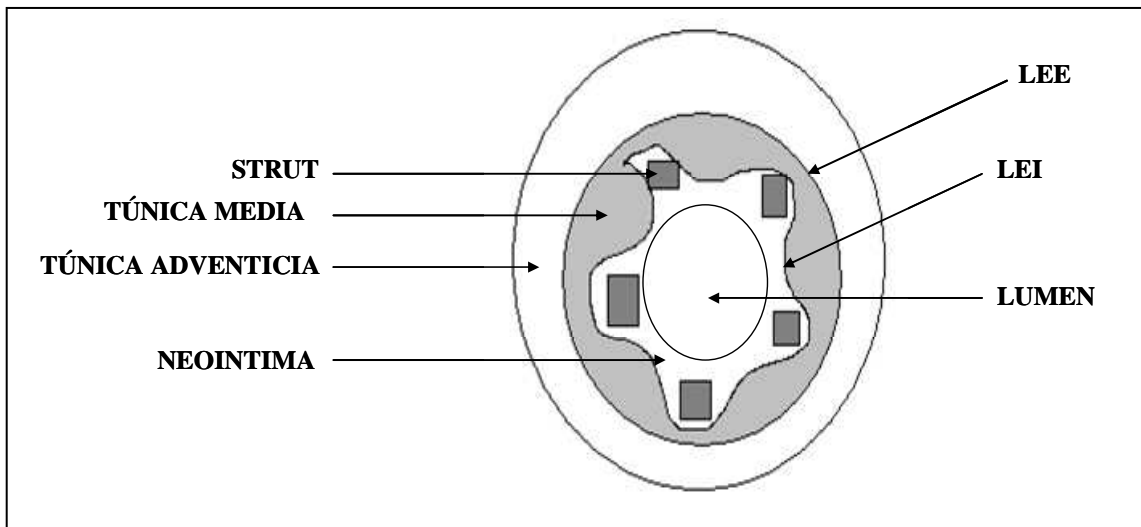
Figura 26. Sistema de medición.



En cada sección se determinaban en primer lugar tres áreas (figura 27):

- área incluida dentro de la lamina elástica externa (LEE)
- área delimitada por la lámina elástica interna (LEI)
- área ocupada por la luz de la arteria (Lumen).

Figura 27: Sección de arteria coronaria con un stent implantado. Áreas del lumen, de la túnica adventicia, de la túnica media y de la neoíntima.



A partir de estas áreas se calculaban, mediante una hoja de Excel, cuatro nuevas medidas:

- área de la Túnica Media (calculada como LEE-LEI)
- área de la Neoíntima (LEI-Lumen)
- porcentaje (%) de Reestenosis: $[1 - (\text{Lumen} / \text{LEI})] \times 100$ (porcentaje de neoíntima que ocupa el área de la LEI)
- índice AN/LEE (relación entre el área de neoíntima y el área de LEE)

También para cada corte se calculaba el grado de daño vascular o *injury score* (IS) de cada uno de los struts del stent, únicamente atendiendo a la integridad o no de la lámina elástica interna (según el IS modificado de las clasificaciones de Schwartz et al., 1992 y Gunn et al.; 2002), de tal forma que el 1 es integridad de lámina limitante elástica interna (figura 28) y el 2 es rotura de la lámina elástica interna (figura 29).

Figura 28. Daño vascular tipo I (Injury Score I). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.

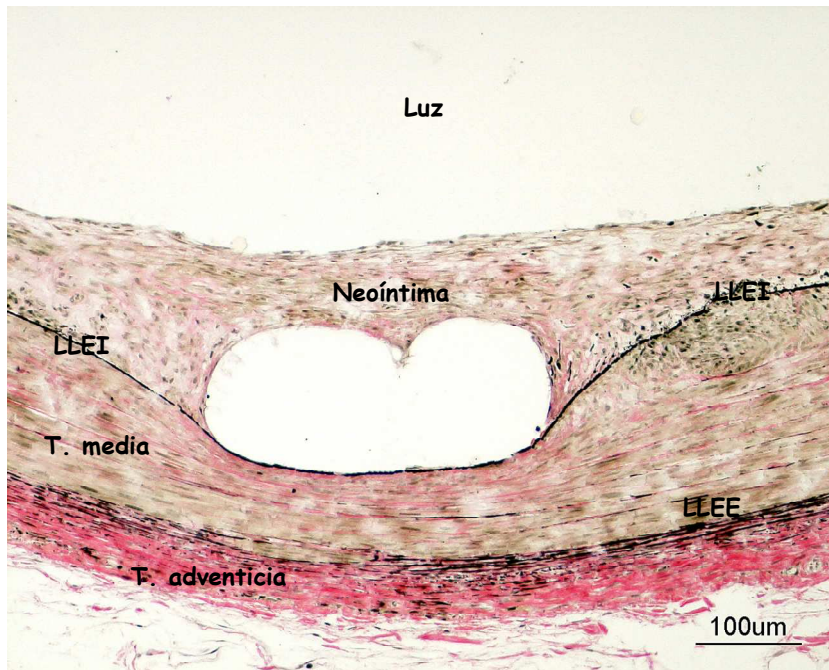
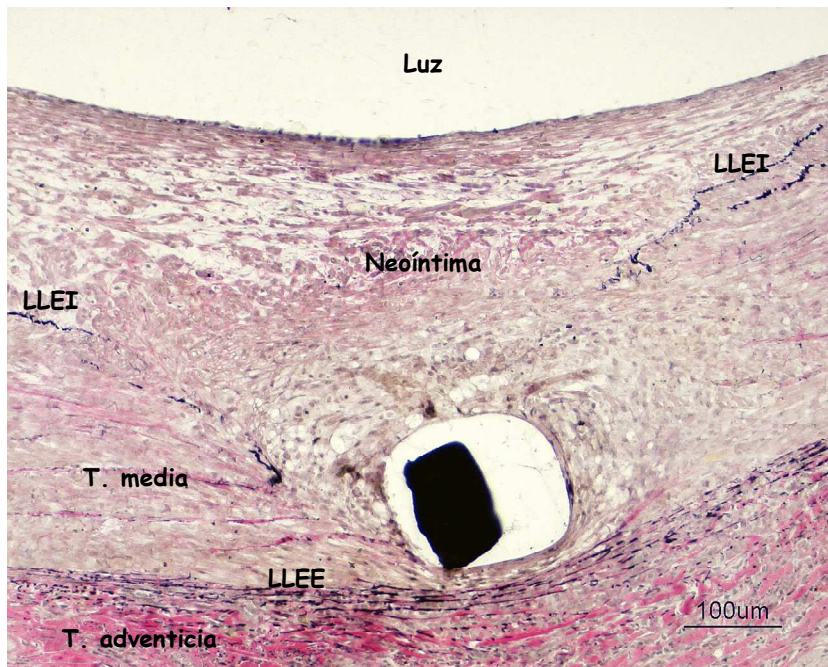


Figura 29. Daño vascular tipo 2 (Injury Score 2). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.



El IS o daño vascular se valoró en al menos tres secciones del stent (proximal, central y distal) en cada uno de los struts (media de 21 struts

por arteria). Cuando existía, al menos, un strut con rotura de la lámina elástica interna en cada una de las secciones analizadas de cada stent, se consideraba IS 2, sino se consideraba IS 1. Aquellas muestras de stents en que alguna de las secciones presentara rotura de la túnica adventicia, fueron retiradas del análisis.

Toda la evaluación histomorfométrica fue realizada por un anatomopatólogo cualificado que en todo momento desconocía a que tipo de arteria y stents correspondían los cortes.

PROTOCOLO DE RECOGIDA DE DATOS

Además del IS en al menos 21 struts por stent, de cada stent se obtenían al menos seis parámetros generales (área de la LEE, área de la LEI, área de la luz, área de la túnica media, área de la neointima y porcentaje de reestenosis) e índice AN/LEE para cada uno de los seis cortes histológicos que se valoraban de cada una de las arterias coronarias. Ello daba como resultado más de 3400 datos por lo que era muy importante establecer una clara sistemática de clasificación. Así, todas las medidas obtenidas de cada muestra se almacenaban e identificaban mediante el número de muestra, número de porta en que se encontraba, tipo de arteria coronaria (izquierda, derecha, circunfleja), zona de la arteria (central del stent, lateral proximal o lateral distal del stent), número de animal y grupo de tratamiento, mediante un sistema de codificación “ad hoc”.

Para cada zona de cada una de las arterias se hacía una hoja Excel individualizada con los datos primarios y los valores medios y desviación estándar correspondiente a esa zona (lo que supone 180 hojas para 20 animales). A partir de estas hojas primarias se elaboraban otras hojas

secundarias por grupo de tratamiento (*Hojas de Grupo*), donde se resumían los valores medios finales obtenidos para cada una de las arterias de cada animal de ese grupo. Una vez se habían realizado estas hojas de grupo se procedía a identificar el tipo de stent colocado en cada arteria y, a continuación, se hacían las medias y representaciones gráficas de los resultados en función del tipo de stent. No obstante el análisis de los datos se hizo a partir de una muestra final de 18 animales y 47 stents, pues de los 20 animales de la muestra inicial se excluyeron dos (animal 1 y animal 5) debido a su muerte prematura a las pocas horas tras el proceso de implante. Al no haber cumplido el periodo previsto en el protocolo y teniendo en cuenta que las causas de la muerte no estaban relacionadas con el objetivo de nuestro estudio, se consideró que debían ser excluidos del estudio. Ambos fallecieron entre 4 y 6 horas después del procedimiento; como causas probables se consideraron una arritmia ventricular letal y/o trombosis de un stent, pero sin llegarse a establecer la causa. En ambos casos el procedimiento fue muy prolongado, con grandes dificultades técnicas para canalizar de forma selectiva los ostium coronarios.

Además se perdieron para el análisis 7 arterias (stents) por diferentes motivos. El stent de la arteria circunfleja del animal 3, el de la arteria descendente anterior del animal 4 y los de la descendente anterior y circunfleja del animal 6, fueron eliminados del análisis porque la sobreexpansión del stent rompió la capa media y adventicia de la arteria, con una gran reacción granulomatosa que hacía imposible su análisis. Dado que no hubo diferencias significativas en la presión de liberación del dispositivo, es probable que el menor tamaño de estos animales y por tanto el menor calibre de sus arterias, hayan favorecido esta situación. Por último se perdieron tres arterias (stents) en el proceso de deshidratación e inclusión en resina (arterias descendente anterior del animal 10 y del 17 y

arteria circunfleja del animal 19) (tabla X).

4.1. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La estadística descriptiva univariante se resolvió con medidas de tendencia central y dispersión cuando los datos eran cuantitativos y con frecuencias/porcentajes cuando eran cualitativos. Su representación gráfica mediante tablas y diagramas de barra y sectoriales.

En la estadística analítica bivalente se emplearon pruebas paramétricas y no paramétricas según procedía. En las pruebas paramétricas para la comparación de las variables cualitativas se empleó el test de Chi² y para la comparación de variables cuantitativas el test ANOVA con el test de comparaciones múltiples “a posteriori” de Tukey. La homogeneidad de las varianzas se determinó mediante el test de Barlett’s. Para todos los análisis se consideraron las diferencias como estadísticamente significativas si $p \leq 0,05$.

En la estadística multivariante, aunque en los últimos años la presencia de modelos ad-hoc se ha hecho más frecuente en diferentes ramas de la medicina (Leslie et al. 2007; Ozeraitien y Etanaite 2006; Zimering et al. 2007), el empleo de modelos basados en técnicas avanzadas de análisis multivariante todavía no se ha constituido en una práctica frecuente entre la comunidad médica. No obstante utilizaremos las técnicas y modelos siguientes:

- ✓ Análisis de conglomerados y dendogramas
- ✓ Análisis discriminante
- ✓ Regresiones lineales multivariantes.

- ✓ Modelos multivariantes de splines adaptativos regresivos (MARS).

ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS Y DENDOGRAMAS

El Análisis de clusters (o análisis de conglomerados) es una técnica de análisis exploratorio de datos para resolver problemas de clasificación. Su objeto consiste en ordenar objetos en grupos de forma que el grado de asociación/similitud entre miembros del mismo cluster sea más fuerte que el grado de asociación/similitud entre miembros de diferentes clusters. Cada cluster se describe como la clase a la que sus miembros pertenecen (Nisbet, 2009).

El análisis de clusters es un método que permite descubrir asociaciones y estructuras en los datos que no son evidentes a priori pero que pueden ser útiles una vez que se han encontrado. Los resultados de un análisis de clusters pueden contribuir a la definición formal de un esquema de clasificación tal y como una taxonomía para un conjunto de objetos, a sugerir modelos estadísticos para describir poblaciones, a asignar nuevos individuos a distintas clases para diagnóstico e identificación, etc.

Existen dos tipos fundamentales de métodos de clasificación: jerárquicos y no jerárquicos. En los primeros, la clasificación resultante tiene un número creciente de clases anidadas mientras que en el segundo las clases no son anidadas.

Los métodos pueden dividirse en aglomerativos y divisivos. En los aglomerativos se parte de tantas clases como objetos tengamos que clasificar y en pasos sucesivos vamos obteniendo clases de objetos

similares, mientras que en los segundos se parte de una única clase formada por todos los objetos que se va dividiendo en clases sucesivamente.

El dendograma, o árbol jerárquico, es una representación gráfica del resultado del proceso de agrupamiento en forma de árbol. Los criterios para definir distancias empleados en los métodos jerárquicos (Peña Sánchez De Rivera, 2002) tienen la propiedad de que, si consideramos tres grupos A , B y C , se verifica que:

$$d(A, C) \leq \text{máx}\{d(A, B), d(B, C)\}$$

y una medida de distancia que tiene esta propiedad se denomina ultramétrica. Esta propiedad es más fuerte que la propiedad triangular, ya que una ultramétrica es siempre una distancia. En efecto, si $d(A, C)$ es menor o igual que el máximo de $d(A, B)$, $d(B, C)$, forzosamente será menor o igual que la suma $d(A, B) + d(B, C)$. El dendograma es la representación de una ultramétrica, y se construye como sigue:

En la parte inferior del gráfico se disponen los n elementos iniciales. Las uniones entre elementos se indican por tres líneas rectas. Dos dirigidas a los elementos que se unen, y que son perpendiculares al eje de los elementos, y una paralela a este eje, que se sitúa al nivel en que se unen. El proceso se repite hasta que todos los elementos están conectados por líneas rectas. Si se corta el dendograma a un nivel de distancia dado, obtenemos una clasificación del número de grupos existentes a ese nivel y los elementos que lo forman.

ANÁLISIS DISCRIMINANTE

El análisis discriminante es una herramienta que permite asignar, segmentar o clasificar individuos dentro de grupos previamente definidos o reconocidos (clasificación ad-hoc). El análisis parte de una serie de n individuos en que los que se tienen en cuenta p variables cualitativas independientes o explicativas como perfil de cada uno de ellos (Mclachlan, 2004). Una variable cualitativa adicional, con dos o más categorías, define el grupo al que cada individuo pertenece. Se trata, pues, de una tabla $n \cdot (p+1)$ en la que cada caso figura con un perfil y una asignación de grupo. A partir de dicha tabla se obtendrá un modelo matemático discriminante contra el cual será contrastado el perfil de un nuevo individuo cuyo grupo se desconoce para, en función de un resultado numérico, ser asignado al grupo más probable. Cuanto mejor sea la información de partida más fiable será el resultado de las asignaciones posteriores.

Puesto que el modelo discriminante también puede ser contrastado contra sí mismo mediante su aplicación a los propios individuos de la tabla ignorando la clasificación que en ella figura, puede decirse que la finalidad de un análisis discriminante es doble; por un lado explicar la pertenencia de cada caso del fichero patrón a un grupo u otro en función de las variables de su perfil, para comprobar su pertenencia o no al grupo preestablecido, a la vez que cuantificar el peso de cada una de ellas en la discriminación.

En el caso aplicado en el presente trabajo, la clasificación aplicada fue la de dos grupos a partir de k variables clasificadoras. La función discriminante de Fisher D se obtiene como función lineal de k variables explicativas como:

$$D = u_1 \cdot X_1 + u_2 \cdot X_2 + \dots + u_k \cdot X_k$$

Las puntuaciones discriminantes son los valores que se obtienen al dar valores a X_1, X_2, \dots, X_k en la ecuación anterior. Se trata de obtener los coeficientes de ponderación u_j . Si consideramos que existen n observaciones, la función discriminante se puede expresar:

$$D_i = u_1 \cdot X_{1i} + u_2 \cdot X_{2i} + \dots + u_k \cdot X_{ki} \quad i = 1, 2, \dots, n$$

D_i es la puntuación discriminante correspondiente a la observación i -ésima, expresando las variables explicativas en desviaciones respecto a la media. Por tanto, D_i también lo estará y la relación anterior se puede expresar en forma matricial como:

$$\begin{bmatrix} D_1 \\ D_2 \\ \dots \\ D_n \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} X_{11} & X_{21} & \dots & X_{k1} \\ X_{12} & X_{22} & \dots & X_{k2} \\ \dots & \dots & \dots & \dots \\ X_{1n} & X_{2n} & \dots & X_{kn} \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} u_1 \\ u_2 \\ \dots \\ u_k \end{bmatrix}$$

La variabilidad de la función discriminante (suma de cuadrados de las variables discriminantes en desviación respecto a su media) se expresa como:

$$d' \cdot d = u' \cdot X' \cdot X \cdot u$$

La matriz $X' \cdot X$ es una matriz simétrica expresada en desviaciones con respecto a la media. Los centros de gravedad o centroides son los estadísticos básicos que resumen la información sobre los grupos. Los

centroides de los grupos I y II (los dos grupos que se consideran) serán los siguientes:

$$\bar{X}_I = \begin{bmatrix} \bar{X}_{1I} \\ \bar{X}_{2I} \\ \dots \\ \bar{X}_{kI} \end{bmatrix} \quad \bar{X}_{II} = \begin{bmatrix} \bar{X}_{1II} \\ \bar{X}_{2II} \\ \dots \\ \bar{X}_{kII} \end{bmatrix}$$

Con lo que para dichos grupos se obtiene:

$$\bar{D}_I = u_1 \cdot \bar{X}_{1I} + u_2 \cdot \bar{X}_{2I} + \dots + u_k \cdot \bar{X}_{kI}$$

$$\bar{D}_{II} = u_1 \cdot \bar{X}_{1II} + u_2 \cdot \bar{X}_{2II} + \dots + u_k \cdot \bar{X}_{kII}$$

El punto de corte discriminante se calcula por medio de la ecuación:

$$C = \frac{\bar{D}_I + \bar{D}_{II}}{2}$$

El criterio para clasificar el individuo i es el siguiente (Huberty y Olejnik, 2004):

Si $D_i < C \rightarrow i \in$ Grupo I

Si $D_i > C \rightarrow i \in$ Grupo II

REGRESIONES LINEALES MULTIVARIANTES

Sea y una variable aleatoria (variable respuesta) cuya pauta de variabilidad depende de otras variables (aleatorias o no) $x_1 \dots x_p$ que

denominaremos variables explicativas. El objetivo que se persigue es la construcción de un modelo lineal en los parámetros que permita predecir la variable respuesta a partir de las explicativas. En caso de que se disponga de una variable explicativa se denomina modelo de regresión simple, mientras que si se dispone de varias se denomina modelo de regresión múltiple (Guillén, 1992).

El modelo de regresión lineal múltiple asume que cada variable explicativa contribuye de manera aditiva y constante en la predicción de la variable respuesta dentro del rango de valores observados. La ecuación básica del modelo adopta la siguiente forma:

$$y_i = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{1i} + \dots + \beta_j \cdot x_{ji} + u_i \quad (1)$$

La modelización que se realiza se basa en descomponer la variabilidad de la variable respuesta en dos partes. Una primera parte, que se conoce como parte determinista o estructural del modelo, que permite predecir el valor de la variable respuesta a partir de los valores de las variables j explicativas incluidas en el modelo. La segunda parte, u , recoge el efecto de todas aquellas variables que influyen en la variable respuesta pero que no han sido incluidas en el modelo. Esta segunda parte se conoce como perturbación aleatoria o también término residual o del error. Se obtiene para cada observación como la diferencia entre el valor observado de la variable respuesta menos el valor predicho por el modelo.

El modelo de regresión lineal supone que las perturbaciones se caracterizan como variables aleatorias cuya distribución es normal, de media nula, y varianza constante $N(0, \sigma^2)$, y además son independientes

entre sí. Por tanto, en este modelo se asume que la distribución condicional de la variable respuesta y para unos valores concretos de las variables explicativas, es una variable aleatoria cuya varianza no depende de las variables explicativas, pero cuya media es una función lineal de los valores de las variables explicativas:

$$E(y_i | x_1 = x_{1i}, \dots, x_j = x_{1j}) = \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{1i} + \dots + \beta_j \cdot x_{ji}$$

$$\sigma^2(y_i | x_1 = x_{1i}, \dots, x_j = x_{1j}) = \sigma^2$$

$$E(u_i) = 0 \quad \sigma^2(u_i) = \sigma^2$$

Estimación de los parámetros del modelo.

Esta etapa consiste en determinar los valores de los coeficientes o parámetros del modelo de regresión a partir de un conjunto de observaciones en las que se conoce los valores de las variables explicativas así como de la variable respuesta. Se trata de obtener los valores de los parámetros del modelo de regresión que hacen más probable dicho conjunto de datos teniendo en cuenta las hipótesis en las que se basa el modelo.

Dado el modelo representado por la ecuación (1), y un conjunto de n observaciones, el proceso de cálculo de los coeficientes se realiza por el método de mínimos cuadrados que coincide con el de máxima verosimilitud ya que la variable respuesta por hipótesis se asume que tiene una distribución normal.

Para las n observaciones tendremos el siguiente sistema de ecuaciones:

$$\begin{aligned}
 y_1 &= \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{11} + \dots + \beta_j \cdot x_{j1} + u_1 \\
 &\dots\dots\dots \\
 y_i &= \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{1i} + \dots + \beta_j \cdot x_{ji} + u_i \quad (2) \\
 &\dots\dots\dots \\
 y_n &= \beta_0 + \beta_1 \cdot x_{1n} + \dots + \beta_j \cdot x_{jn} + u_n
 \end{aligned}$$

En el método de mínimos cuadrados se minimiza la suma de los errores al cuadrado en el conjunto de observaciones utilizadas para la obtención de los parámetros del modelo, es decir, se minimiza la siguiente expresión:

$$\sum_{i=1}^n e_i^2 = \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1 \cdot x_{1i} + \dots + b_j \cdot x_{ji}))^2 = \sum (y_i - \hat{y}_i)^2 \quad (3)$$

Donde e_i es el residuo estimado para la observación i , y_i el valor observado de la variable respuesta en dicha observación, b_j es la estimación del coeficiente de regresión β_j , es decir, es el coeficiente estimado para la variable j e \hat{y}_i es el valor de la predicción del modelo de regresión para la observación i .

Para estimar los parámetros del modelo (es decir, el vector de coeficientes b_j de la regresión) se deriva e iguala a cero la función a minimizar, que se denota g y que viene dada por la ecuación (3), respecto de cada uno de los parámetros.

$$\frac{\partial g}{\partial b_0} = 2 \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1 \cdot x_{1i} + \dots + b_j \cdot x_{ji})) = 0$$

$$\frac{\partial g}{\partial b_1} = 2 \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1 \cdot x_{1i} + \dots + b_j \cdot x_{ji})) \cdot x_{1i} = 0 \quad (4)$$

.....

$$\frac{\partial g}{\partial b_j} = 2 \sum_{i=1}^n (y_i - (b_0 + b_1 \cdot x_{1i} + \dots + b_j \cdot x_{ji})) \cdot x_{ji} = 0$$

El vector de parámetros estimados a partir de las n observaciones, usualmente representado por $\hat{\beta}$, se obtiene resolviendo el sistema de ecuaciones definido en (4).

La minimización que se realiza tiene una interpretación geométrica. El vector de valores observado de la variable respuesta y se descompone en dos componentes: una primera que viene determinada por la parte determinista del modelo, es la predicción del modelo \hat{y} . Como es combinación lineal de las variables explicativas estará contenida en el espacio definido por éstas. La otra componente es la diferencia entre lo observado y lo predicho por el modelo (parte residual), y es la parte que se busca que sea mínima. Esta minimización del vector residual se consigue proyectando ortogonalmente la variable respuesta sobre el espacio definido por las variables explicativas.

En forma matricial el modelo de regresión lineal de la ecuación (2) se expresa de la siguiente manera:

$$y = X \cdot \beta + u$$

Donde y es el vector de valores observados de la variable respuesta, X es la matriz de valores observados de las variables explicativas, en la que se incluye una columna de unos para representar la variable auxiliar que multiplica al parámetro β_0 , β es el vector de parámetros del modelo y u es el vector de perturbaciones aleatorias.

La estimación del vector de parámetros del modelo por el método de mínimos cuadrados se realiza minimizando la ecuación (3), expresada en forma vectorial, obteniendo:

$$\hat{\beta} = (X^T X)^{-1} X^T y$$

Una vez estimados los parámetros del modelo de regresión lineal, las predicciones de la variable respuesta se obtienen de la siguiente manera (Etxeberria, 1999):

$$\hat{y} = Xb = X(X^T X)^{-1} X^T y = Hy$$

Donde H es la matriz de proyección ortogonal de la variable respuesta y sobre el espacio generado por las variables explicativas.

MODELOS MULTIVARIANTES DE SPLINES ADAPTATIVOS REGRESIVOS (MARS)

Un problema común en muchas disciplinas es la adecuada aproximación de funciones de muchas variables, conocido únicamente el valor de dicha función en un grupo reducido de puntos del espacio de la variable independiente y, a menudo, perturbado por el ruido. El objetivo es

encontrar el modelo de dependencia entre la variable respuesta y las variables de entrada x_1, \dots, x_n una vez que se ha realizado un muestreo $\{y_i, x_1, \dots, x_n\}_1^N$.

El sistema que genera los datos se puede describir como $y = f(x_1, \dots, x_n) + \varepsilon$ sobre un dominio $(x_1, \dots, x_n) \in D \subset R^n$, el cual, contiene los datos.

La función f relaciona la variable de salida con las variables de entrada y ε es el ruido estocástico. El objetivo del análisis de regresión es encontrar una función $\tilde{f}(x_1, \dots, x_n)$ que sirva como aproximación de $f(x_1, \dots, x_n)$ sobre el dominio D .

Para ello se considera un tipo de funciones denominadas funciones básicas B_m de la forma:

$$B_m(x) = I[x \in R_m] \quad (5)$$

I es una función que toma el valor 1 si el argumento es cierto y 0 en caso contrario. Los $\{a_m\}_1^M$ son los coeficientes de expansión cuyos valores son ajustados para obtener una buena adaptación a los datos. Los $\{R_m\}_1^M$ son las subregiones del espacio donde está definida la función. Si estas subregiones son disjuntas, sólo una función básica es distinta de 0 para cada x .

La principal limitación del método anterior es su falta de continuidad entre subregiones vecinas. Esta falta de continuidad limita la precisión de la adaptación. Para conseguir modelos continuos, con derivadas continuas, se

desarrolló el método de splines regresivos adaptativos (Multivariable Adaptive Regressive Splines, MARS) (Friedman, 1991; Steinberg y Colla, 1995; Steinberg et al. 1999).

El único aspecto que introduce discontinuidades en el modelo es la función escalón. Si se reemplaza esta función por otra que sea continua, el algoritmo 1 debería de producir modelos continuos. La función elegida para reemplazar a la función escalón es un spline.

Las dos partes de la división de la función básica tienen la forma:

$$b_q^\pm(x-t^n) = [\pm(x-t^n)]_+^{q_s} \quad (6)$$

donde t^n es la localización del nodo, q_s es el orden del spline, y el subíndice indica la parte positiva del argumento.

Para $q_s > 0$ la aproximación por splines es continua (Prenter, 1975), y con $q_s - 1$ derivadas continuas.

Las funciones escalón son un caso particular en que los splines son de grado cero, $q_s = 0$.

Este método produce unas funciones básicas que son el producto de splines univariantes. Dichas funciones básicas tienen la forma:

$$B_m^{(q)}(x) = \prod_{k=1}^{K_m} [s_{km} \cdot (x_{v(k,m)} - t_{km})] \quad (7)$$

Es decir, reemplazando las funciones escalón por splines de grado q_s , se consiguen modelos continuos, con $q_s - 1$ derivadas continuas.

El modelo MARS se escribe de la siguiente forma:

$$\tilde{f}(x) = a_0 + \sum_{K_m=1} f_i(x_i) + \sum_{K_m=2} f_{ij}(x_i, x_j) + \sum_{K_m=3} f_{ijk}(x_i, x_j, x_k) + L \quad (8)$$

El primer sumatorio contiene todas aquellas funciones que dependen de una sola variable. El segundo contiene las funciones básicas que dependen de dos variables, y representa las interacciones entre dos variables. El tercer sumatorio representa la contribución de las interacciones entre tres variables, y así sucesivamente.

Sea $V(m) = \{v(k, m)\}_1^{K_m}$ el conjunto de variables asociada con la función básica m , $B_m(x)$. Cada función del primer sumatorio puede ser expresada como:

$$f_i(x_i) = \sum_{\substack{K_m=1 \\ i \in V(m)}} a_m B_m(x_i) \quad (9)$$

La ecuación anterior representa la suma de todas las funciones básicas que envuelven solamente la variable x_i y es el spline que representa la función univariante correspondiente.

Cada función bivalente del segundo sumatorio puede ser expresarse como:

$$f_i(x_i, x_j) = \sum_{\substack{K_m=2 \\ (i, j) \in V(m)}} a_m B_m(x_i, x_j) \quad (10)$$

Lo cual representa la suma de todas las funciones básicas que envuelven un determinado par de variables x_i y x_j . Sumándole la correspondiente contribución univariante para esas mismas variables se tendrá:

$$f_{ij}^*(x_i, x_j) = f_i(x_i) + f_j(x_j) + f_{ij}(x_i, x_j) \quad (11)$$

que representa el conjunto de la contribución bivariante de x_i y x_j al modelo. Procediendo de la misma manera se obtienen las contribuciones de los términos correspondientes a grupos de tres o más variables.

El método MARS combina los métodos de proyección activa y proyección recursiva, utilizando regresión multivariante adaptativa con splines (Chevochot, 1999; Steinwart, 2001). El modelo utilizado por el MARS es el mismo que en proyección recursiva pero con distintas funciones base. Las funciones base utilizadas por el MARS son splines multivariantes, es decir, el producto tensorial de splines de una dimensión.

SOFTWARE ESTADÍSTICO EMPLEADO

La explotación de los datos se llevó a cabo con el programa SPSS versión 15.0 (<http://www.spss.com/es/>) para WINDOWS y el programa MINITAB versión 15.0 (<http://www.minitab.com/es-ES/default.aspx>). Los modelos MARS se realizaron con el entorno para gráficos y computación estadística R (<http://www.r-project.org/>).

RESULTADOS

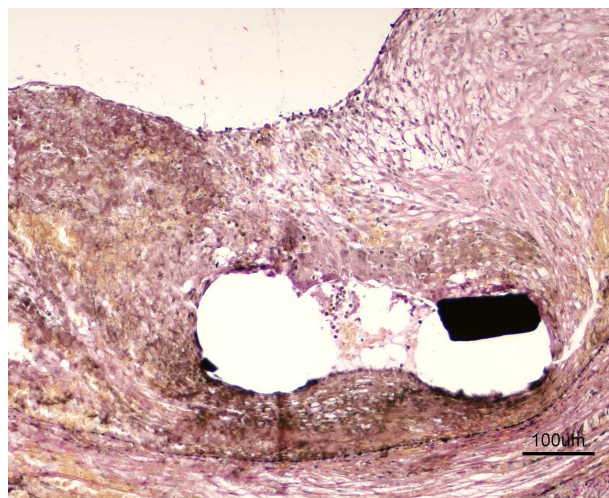
5. RESULTADOS

5.1. DE LA HISTOLOGÍA Y EL PROCEDIMIENTO

La tasa de éxito primario del procedimiento fue del 100%. Fallecieron dos animales a las pocas horas tras el proceso de implante del stent y se completó el seguimiento a cuatro semanas en los 18 animales restantes; no hubo sospecha clínica ni evidencia anatómo-patológica de episodios de trombosis tardía.

En los casos en los que se utilizó la tinción específica de elastina de van Gieson, la valoración histológica demostró que la mayoría de los struts localizados en los extremos distal y proximal del stent aparecían recubiertos por una neoíntima bien desarrollada, revestida por una monocapa de células aplanadas, morfológicamente compatible con células endoteliales, que confluían formando una capa continua tanto sobre strut como entre strut; otros situados principalmente en la porción central del stent estaban revestidos por una neoíntima de menor espesor (figura 30).

Figura 30. Corte histológico (tinción de Van Gieson). Detalle de struts recubiertos de neoíntima y células endoteliales.



5.2. ESTADÍSTICA UNI Y BIVARIANTE

GRUPO CONTROL/SANO

La tabla XI muestra los valores de las variables histomorfométricas estudiadas en cualquiera de las arterias coronarias de los animales considerados como control y su representación gráfica mediante un diagrama de de barras (figura 31) y un corte histológico (figura 32).

Tabla XI. Histomorfometría en segmentos proximales de arterias coronarias sanas. Los valores están representados como media (desviación estándar).

<i>Variables</i>	<i>n = 22</i>
<i>Área de la lámina elástica externa (mm²) (LEE)</i>	3,99 (0,78)
<i>Área de la lámina elástica interna (mm²) (LEI)</i>	2,52 (0,62)
<i>Área de la túnica media (mm²) (ATM)</i>	1,46 (0,54)
<i>Área de la luz (mm²) (AL)</i>	2,52 (0,62)

Figura 31. Morfometría de una arteria coronaria normal en el modelo porcino.

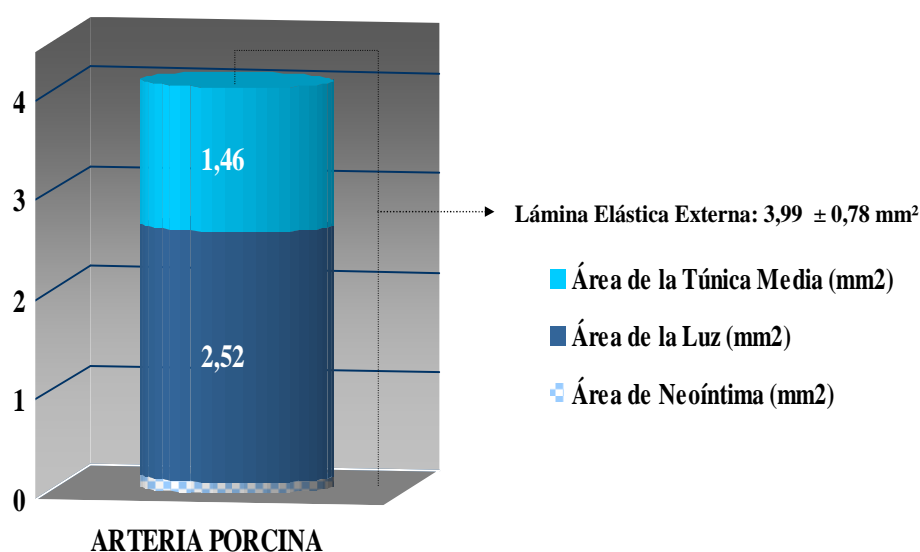


Figura 32. Corte histológico (tinción de Van Gieson) de una arteria coronaria normal en el modelo porcino.



GRUPOS EXPERIMENTALES

HISTOMORFOMETRÍA POR GRUPO DE STENT Y TODOS JUNTOS Y PARA TODAS LAS VARIABLES

La tabla XII muestra la histomorfometría de las arterias coronarias tras la implantación de los stents por grupo de interés y para el conjunto de stents. En la citada tabla se puede observar que las variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos fueron AL, AN, AN/LEE y REESTENOSIS.

Considerando todos los stents y para el área incluida en la LEE, se observó de manera generalizada y en términos absolutos, un aumento significativo de la variable LEE, con respecto al área de un vaso normal

(área del vaso en el segmento lesionado: $10,84 \pm 1,71 \text{ mm}^2$; área del vaso en el segmento normal: $3,99 \pm 0,78 \text{ mm}^2$; $p = 0,019$), con un rango entre 10,23 para el grupo BARE y 11,07 para el grupo P5.

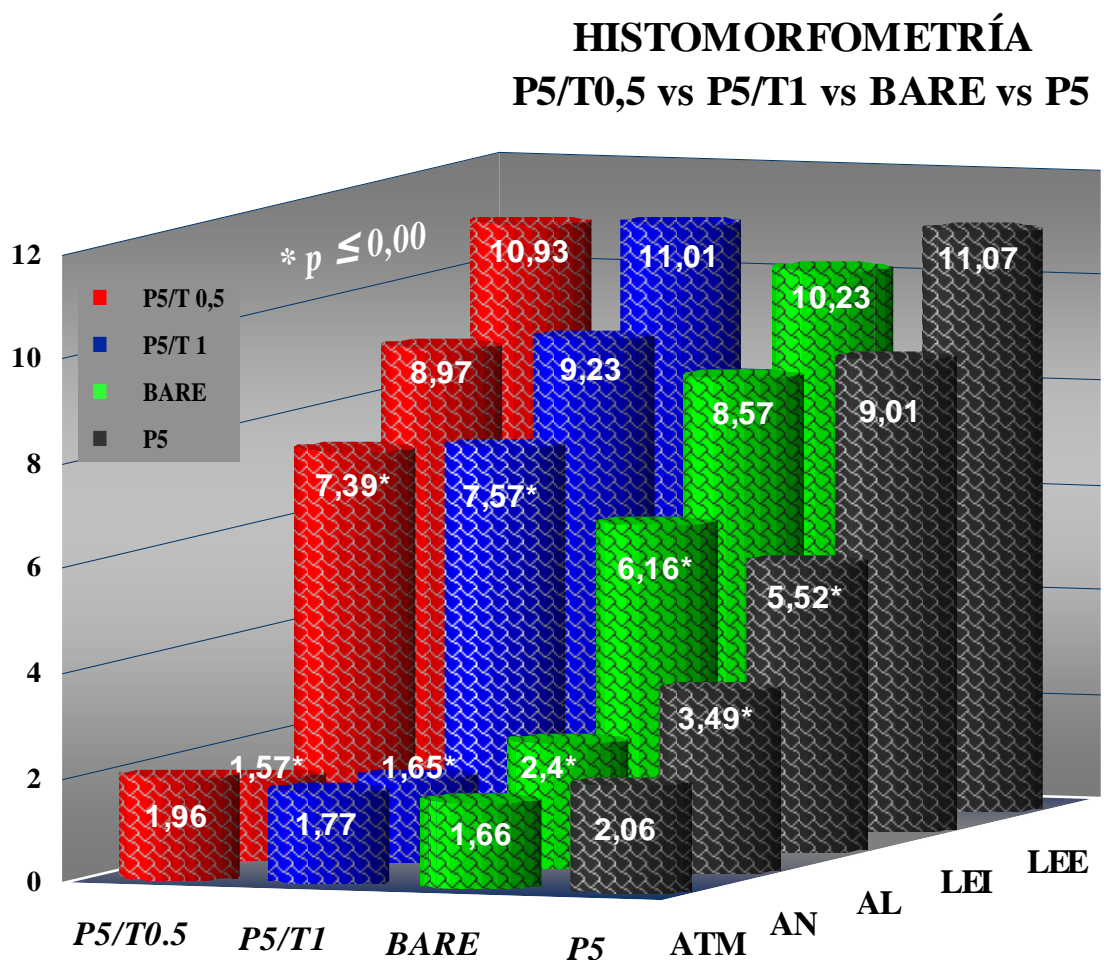
Tabla XII. Valores histomorfométricos de las variables analizadas en los cuatro grupos de estudio. Los valores están representados como media (I.C. al 95%).

Variables	P5/T0.5 (n = 15)	P5/T1 (n = 16)	BARE (n = 9)	P5 (n = 7)	TOTAL (n = 47)	P
LEE (mm ²)	10,93 (9,73-12,14)	11,01 (10,11-11,9)	10,23 (9,43-11,04)	11,07 (9,67-12,47)	10,84 (10,3-11,34)	0,709
LEI (mm ²)	8,97 (8,02-9,92)	9,23 (8,44-10,02)	8,57 (7,83-9,32)	9,01 (7,62-10,40)	8,99 (8,56-9,41)	0,768
AL (mm ²)	7,39 (6,59-8,19)	7,57 (7,03-8,12)	6,16 (5,10-7,22)	5,52 (3,52-7,52)	6,94 (6,47-7,41)	0,006
ATM (mm ²)	1,96 (1,55-2,36)	1,77 (1,57-1,97)	1,66 (1,39-1,93)	2,06 (1,08-3,03)	1,85 (1,66-2,03)	0,529
AN (mm ²)	1,57 (1,16-1,99)	1,65 (1,14-2,15)	2,40 (1,81-3,00)	3,49 (2,37-4,61)	2,04 (1,68-2,35)	0,001
AN/LEE	0,14 (0,11-0,17)	0,14 (0,11-0,17)	0,23 (0,17-0,30)	0,31 (0,22-0,41)	0,18 (0,16-0,21)	0,001
REES (%)	17,49 (13,78-21,2)	17,33 (13,47-21,1)	28,52 (20,52-36,5)	39,91 (24,27-55,5)	22,89 (19,2-26,57)	0,001
PI (atmos)	13,86 (12,51-15,2)	13,75 (12,6-14,89)	13,77 (12,2-15,35)	15,42 (13,75-17,1)	14,04 (13,9-14,68)	0,357
IS 1 (nº casos)	9	11	2	2	24	
IS 2 (nº casos)	6	3	7	4	20	

P5/T0.5: stent con polímero y paclitaxel ($0,17 \mu\text{g}/\text{mm}^2$). P5/T1: stent con polímero y paclitaxel ($0,32 \mu\text{g}/\text{mm}^2$). Bare: stent sin polímero ni paclitaxel. P5: stent con polímero sin paclitaxel. LEE: lámina elástica Externa. LEE: lámina elástica interna. AL: área de la luz. ATM: área de la capa túnica media. AN: área de neointima. AN/LEE: índice área de neointima / Lámina elástica externa. REES: reestenosis. PI: presión de inflado en atmósferas. IS: tipo de daño vascular.

Como dato a destacar, no hubo diferencias significativas entre los grupos con respecto al tamaño final del vaso (área incluida en la LEE) medido a los 28 días de la intervención ($p = 0,70$). Se observó una retracción o remodelado negativo superior en el grupo BARE (a expensas de una reducción de la LEI y ATM) con respecto a los otros tres grupos de tratamiento, pero no observamos significación estadística.

Figura 33. Histomorfometría de los segmentos arteriales analizados en cada grupo de tratamiento (áreas medias en mm²). ATM: área túnica media. AN: área de neointima. LEE: área lámina elástica externa. LEI: área lámina elástica interna.



El diagrama de barras de la figura 33 representa la histomorfometría de los segmentos arteriales analizados en cada grupo de tratamiento. Al considerar el área de la luz del vaso (AL), se establecieron diferencias significativas entre algunos de los grupos ($p = 0,006$), siendo el grupo P5/T1 el que tuvo una mayor área media ($7,57 \text{ mm}^2$) y el grupo P5 el de menor área ($5,52 \text{ mm}^2$). En la figura 34 se representa el boxplot correspondiente a la variable AL mientras que en la tabla XIII se muestran los resultados de la aplicación del test de Tukey. A la vista de los resultados de dicho test, se puede afirmar que la diferencia existente en la variable AL entre el grupo BARE y los otros tres (P5, P5/T0,5 y P5/T1) no es estadísticamente significativa. Sin embargo, la diferencia existente entre el grupo P5 y los grupos P5/T0,5 y P5/T1 sí resultan de significación. Igualmente, tampoco resulta de significación estadística la diferencia que se encuentra entre los grupos P5/T0,5 y P5/T1, si bien ambos se comportaron mejor que el grupo BARE, aunque sin alcanzar significación estadística; como tampoco las había entre el grupo BARE y el P5, aunque el valor de la mediana de la variable AL es superior en el BARE que en el P5. Es decir, frente a la variable AL los dos grupos que contienen paclitaxel se comportan de forma indistinguible desde el punto de vista estadístico.

Figura 34. Boxplot de la variable AL.

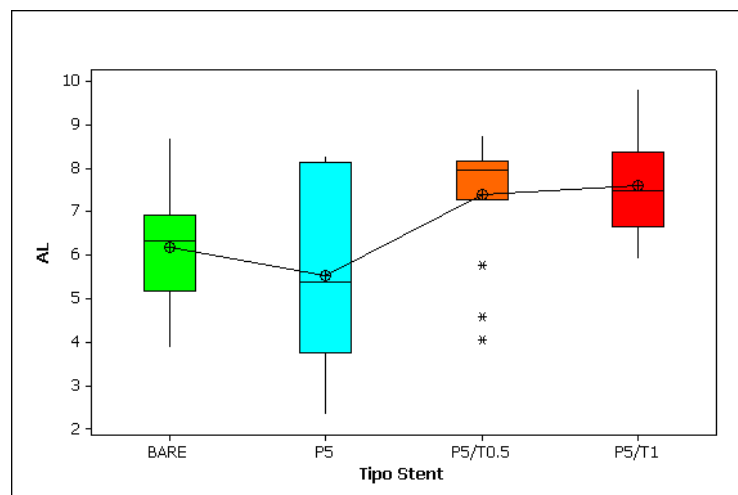


Tabla XIII. Test de Tukey aplicado a la variable AL.

Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals
All Pairwise Comparisons among Levels of Tipo Stent
Individual confidence level = 98,94%

Tipo Stent = BARE subtracted from:

Tipo Stent	Lower	Center	Upper	
P5	-2,570	-0,642	1,287	(-----*-----)
P5/T0,5	-0,387	1,227	2,841	(-----*-----)
P5/T1	-0,179	1,416	3,010	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+
 -2,0 0,0 2,0 4,0

Tipo Stent = P5 subtracted from:

Tipo Stent	Lower	Center	Upper	
P5/T0,5	0,116	1,868	3,620	(-----*-----)
P5/T1	0,323	2,057	3,792	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+
 -2,0 0,0 2,0 4,0

Tipo Stent = P5/T0.5 subtracted from:

Tipo Stent	Lower	Center	Upper	
P5/T1	-1,187	0,189	1,564	(-----*-----)

-----+-----+-----+-----+
 -2,0 0,0 2,0 4,0

Debemos señalar, que si globalmente comparamos ambos segmentos (arteria sana y tras la implantación de un stent) en términos porcentuales, se mantiene la proporción del área de la luz del vaso (AL). La reducción del área de la túnica media (ATM) es proporcional al incremento del área de neoíntima (AN). Esta observación ayudaría a explicar los cambios que se producen en el remodelado arterial, en el intento de preservar la luz efectiva del vaso.

Así mismo se señala un aumento significativo del área incluida en la lámina elástica interna (LEI) y del área de la luz del vaso (AL) respecto al grupo control ($p = 0,001$), con un promedio de 8,99 y valores mínimo de 8,57 y máximo de 9,23 para los grupos BARE y P5/T1 respectivamente y

un valor promedio de AL de 6,94 con valores mínimo de 5,52 y máximo de 7,57 para los grupos P5 y P5/T1 respectivamente.

En cuanto al área de la capa de la túnica media (ATM), ésta aumentó respecto al grupo control, aunque este incremento no fue estadísticamente significativo (1,85 por 1,46; $p = 0,814$). Véanse al respecto las Figuras 35 y 36-a, y representación porcentual en la figura 36-b.

Figura 35. Corte histológico de una arteria coronaria, en el modelo porcino, 28 días después de la implantación de un stent (tinción Van Giesen).



Figura 36-a. Morfometría a los 28 días, del segmento de una arteria coronaria sana comparada con una arteria coronaria tras la implantación de un stent. Valores medios en mm². Modelo porcino.

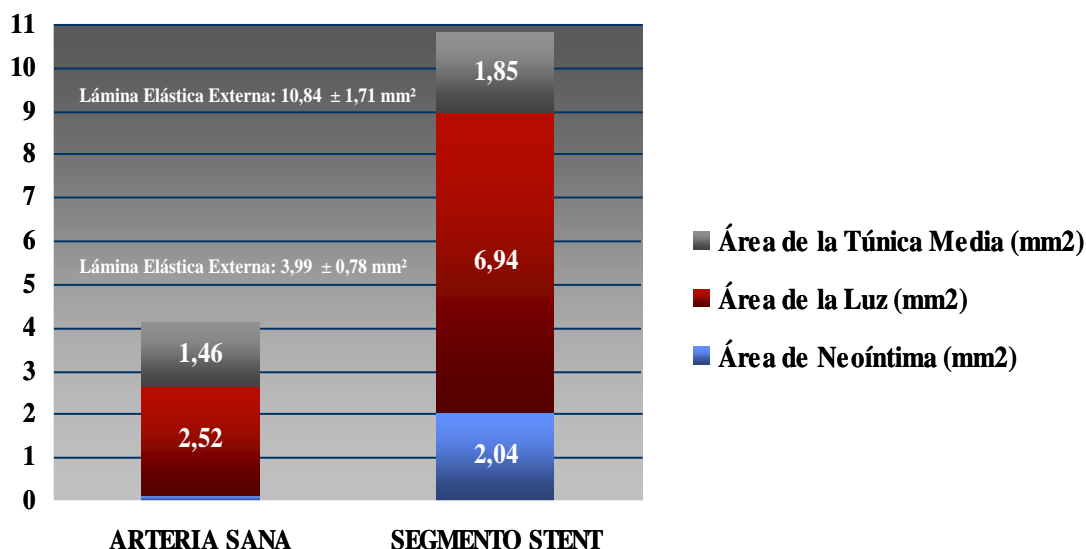
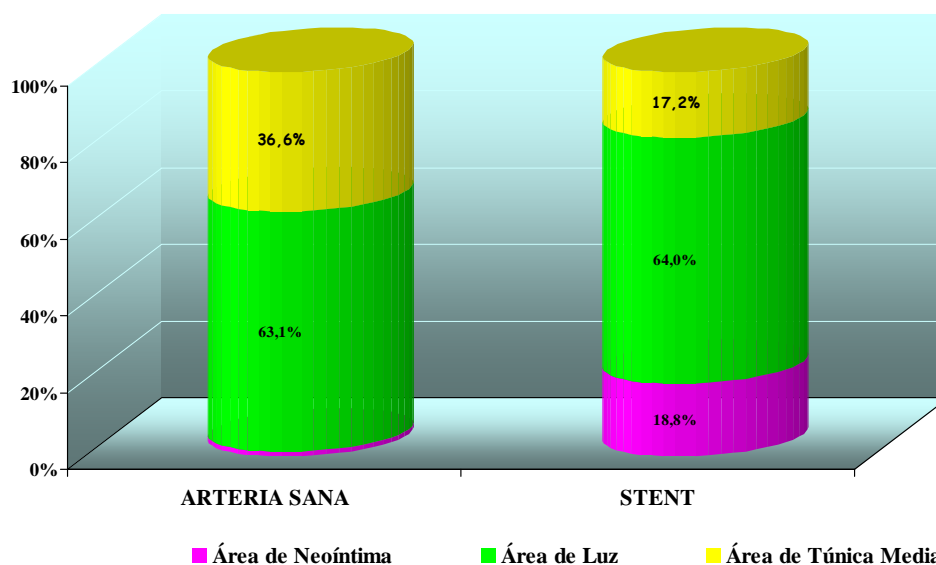


Figura 36-b. Morfometría porcentual de arteria sana y con stent.



El área de neointima (AN) se incrementó poststent respecto al grupo control con un promedio de 2,04 mm² para el total de stents y en un rango desde 1,57 en el grupo P5/T0,5 al 3,49 en el grupo P5 (Tablas XI y XII).

Las tablas XIV, XV y XVI muestran los resultados del test de Tukey aplicados a las variables AN, AN/LEE y REES. A la vista de los resultados obtenidos en la tabla XIV, para la variable AN, existen solamente diferencias significativas entre el grupo P5 y el P5/T0,5 así como entre P5 y el P5/T1. Igualmente, en la tabla XV se observa que para la variable AN/LEE existen diferencias significativas entre BARE y P5/T0.5 así como entre BARE y P5/T1. De igual manera también se observa una diferencia significativa entre P5 y P5/T0,5 así como P5 y P5/T1. Finalmente, en la tabla XVI se observa que la variable REESTENOSIS presenta diferencias de valores estadísticamente significativas entre los grupos P5 y P5/T0,5 así como entre P5 y P5/T1 y de igual manera también se observa una diferencia significativa entre BARE y P5/T0,5 así como BARE y P5/T1. Esta información se complementa con la contenida en la tabla XVII en la que se recogen los valores de las pruebas de contraste entre grupos para las variables AN, AN/LEE y REES.

Tabla XIV. Test de Tukey aplicado a la variable AN.

<i>Tukey 95% Simultaneous Confidence Intervals</i>				
<i>All Pairwise Comparisons among Levels of Tipo Stent</i>				
<i>Individual confidence level = 98,94%</i>				
<i>Tipo Stent = BARE subtracted from:</i>				
Tipo Stent	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+
P5	-0,1618	1,0813	2,3243	(-----*-----)
P5/T0,5	-1,9391	-0,8991	0,1409	(-----*-----)
P5/T1	-1,7847	-0,7569	0,2708	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+
				-1,6 0,0 1,6 3,2
<i>Tipo Stent = P5 subtracted from:</i>				
Tipo Stent	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+
P5/T0,5	-3,1094	-1,9804	-0,8513	(-----*-----)
P5/T1	-2,9560	-1,8382	-0,7205	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+
				-1,6 0,0 1,6 3,2
<i>Tipo Stent = P5/T0.5 subtracted from:</i>				
Tipo Stent	Lower	Center	Upper	-----+-----+-----+-----+
P5/T1	-0,7443	0,1422	1,0286	(-----*-----)
				-----+-----+-----+-----+
				-1,6 0,0 1,6 3,2

Tabla XVII. Pruebas de contraste entre grupos para AN, AN/LEE y REESTENOSIS

	<i>AN (p)</i>	<i>AN/LEE (p)</i>	<i>REESTENOSIS (p)</i>
P5/T0,5 vs P5/T1	0,996	1,00	1,00
P5/T0,5 vs BARE	0,144	0,012	0,045
P5/T0,5 vs P5	0,001	0,001	0,001
P5/T1 vs BARE	0,197	0,012	0,038
P5/T1 vs P5	0,001	0,001	0,001
BARE vs P5	0,095	0,128	0,104

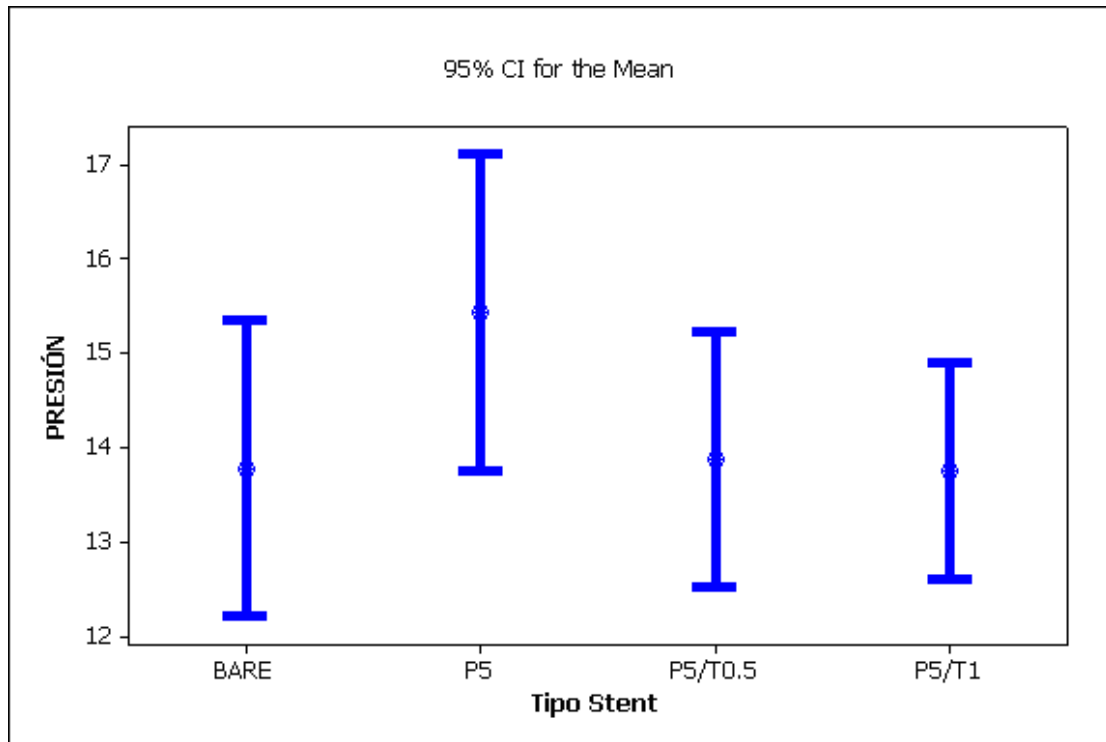
Es necesario destacar que el menor área de neoíntima correspondía a los stents con polímero y paclitaxel siendo estas diferencias estadísticamente significativas y puesto que un incremento de la neoíntima puede considerarse como una respuesta proliferativa a la implantación de un stent, podemos decir que esta respuesta es significativamente menor en los stents con polímero y paclitaxel, independientemente de la dosis, que en el resto de stents. Abundando en lo dicho, los dos grupos de paclitaxel se comportaron de forma similar cuando comparamos el área de neoíntima, tanto es así que la respuesta proliferativa, valorada por el área de neoíntima (AN) del grupo *P5/T0,5* fue un 53% menor que el grupo *BARE* y el *P5/T1* consiguió una reducción del 45%, aunque esta reducciones no alcanzaron significación estadística entre ellos. Ambos stent con paclitaxel, consiguieron una reducción significativas del área de neoíntima (AN)

cuando se compararon con el grupo P5 y a su vez el grupo P5 tuvo un peor comportamiento que el grupo BARE, con un incremento del área de neoíntima del 45%.

Si relacionamos el área de la neoíntima (AN) formada con el área de la LEE a través del índice AN/LEE, que de alguna manera indica la proporción de área de LEE ocupada por la neoíntima, observamos que los stents sin y con polímero P5 muestran un mayor índice (promedio de 0,23 y 0,31 respectivamente) que los stents recubiertos de paclitaxel, sea a baja o altas dosis (promedio de 0,14), siendo estas diferencias estadísticamente significativas (tablas XII y XVII). Concretando, no hubo diferencias en el índice AN/LEE ente los grupos P5/T0,5 y P/T,01, sin embargo el incremento del índice AN/LEE, como valoración de la respuesta proliferativa, fue significativamente mayor en el grupo BARE, cuando se comparó con P5/T0,5 y P5/T1. El grupo P5 tuvo el mismo comportamiento que BARE, cuando se comparó con los dos grupos de paclitaxel y aunque su respuesta proliferativa, valorada por AN/LEE se incrementó con respecto al grupo BARE, no tuvo significación estadística.

La presión de inflado (PI) fue prácticamente semejante para todos los grupos experimentales, la no existencia de diferencias significativas entre éstos se comprobó por medio de la aplicación del test de Tukey. El valor promedio obtenido en los grupos experimentales fue de 14,04 atmósferas, por lo que presumiblemente el posible daño vascular provocado por este mecanismo fue similar para todos los grupos. Véase también al respecto la figura 37 en la que se representan los intervalos de confianza de la media de la variable PRESIÓN para los stents de cada grupo.

Figura 37. Gráfico de los intervalos de confianza de la media de la variable PRESIÓN.



En relación con el daño vascular (IS), cabe destacar que el daño vascular (IS) tipo 2 con rotura de la lámina elástica interna (LEI) aconteció en 20 de los stents colocados, cuya distribución por grupos se recoge en la tabla XII, mientras que 24 cursaron con integridad de la LEI y 3 se excluyeron del análisis por rotura de la LEE, lo que supone que en el 51% de los stents, sean del grupo que fueran, se provocó daño vascular tipo 1 (IS 1) (véanse al respecto las figuras 38-41).

Figura 38. Histología P5/T1 (IS 2). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.

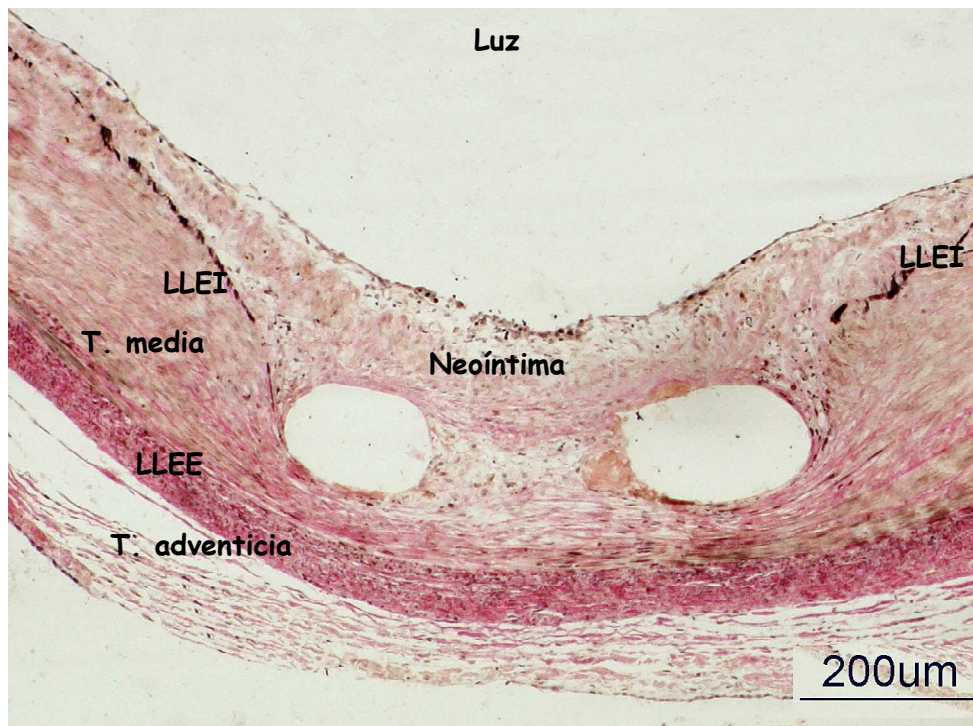


Figura 39. Histología BARE (IS 2). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.

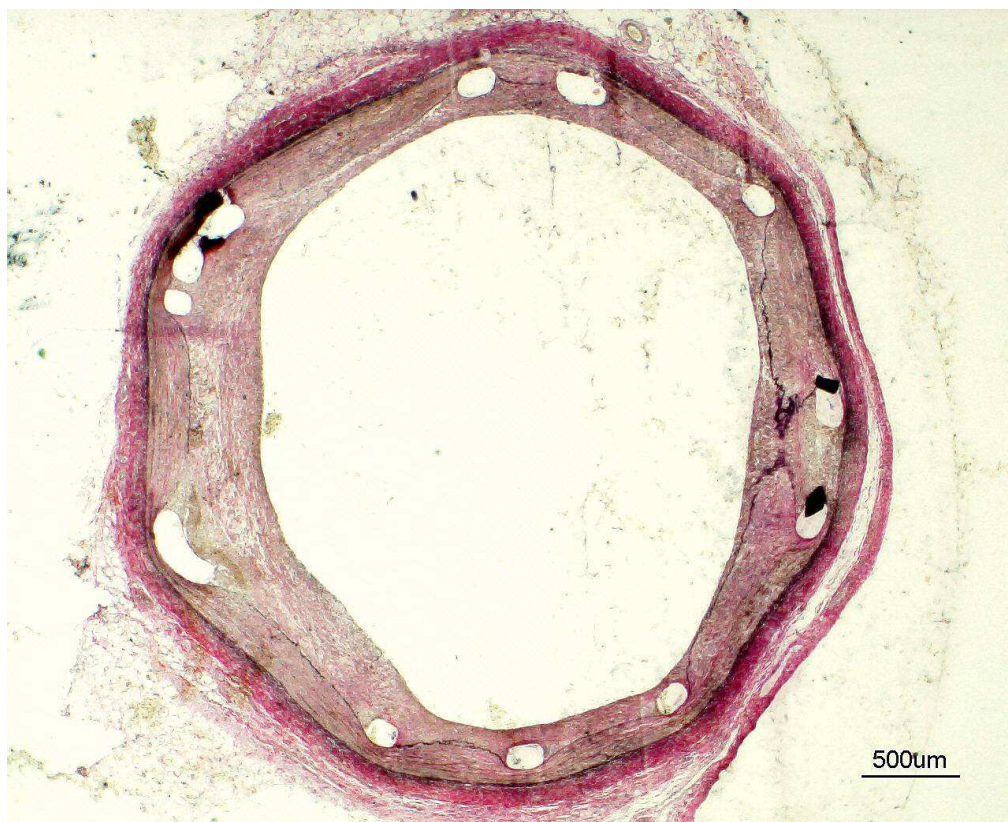


Figura 40. Histología P5[®] (IS 2). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.

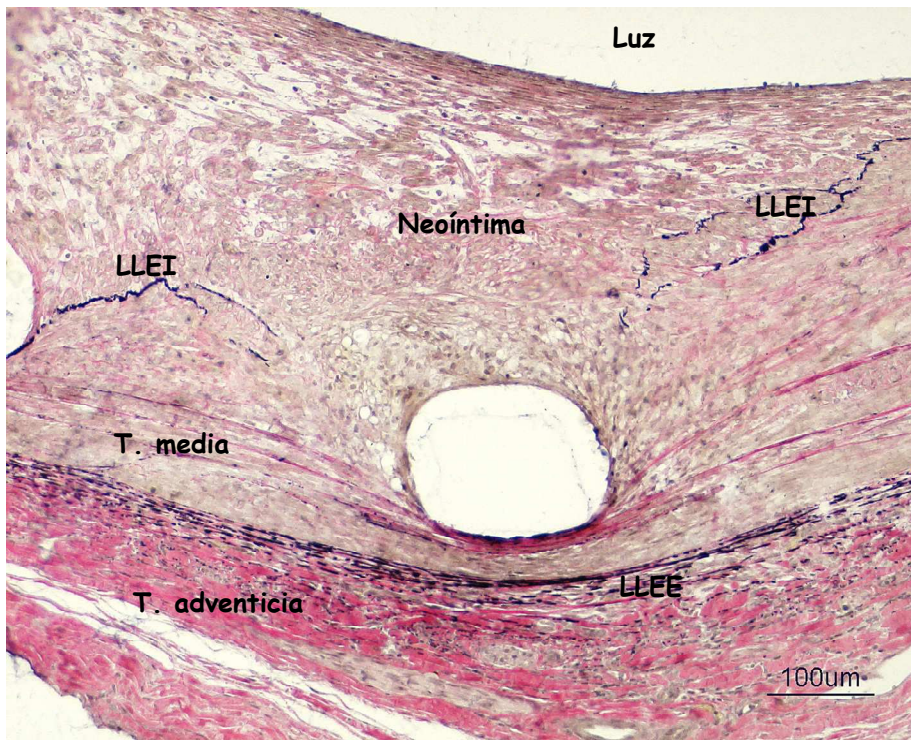
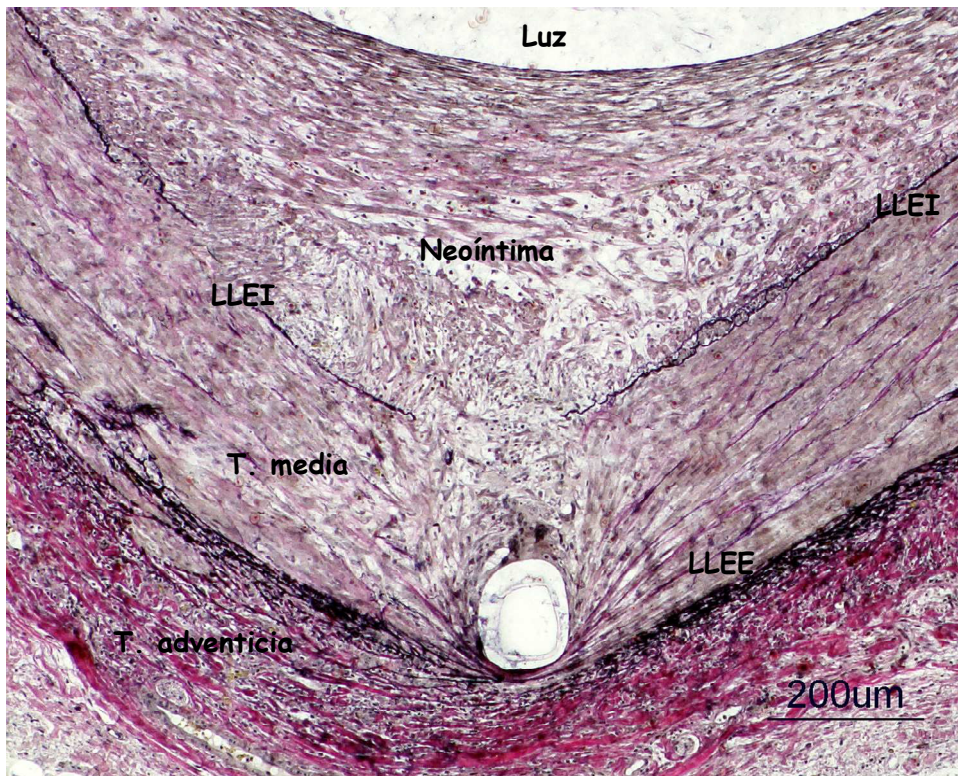


Figura 41. Histología P5[®] (IS 2). Técnica de Verhoeff-Van-Gieson para fibras elásticas. Modelo porcino.



El mayor número de stents con daño vascular tipo 2 (IS 2) ocurrió en el grupo BARE (7) y en el P5/T0,5 (6), mientras que el grupo P5/T1 mostró el menor número de stents con daño vascular tipo 2 (3).

Si comparásemos el daño vascular tipo 2 (IS 2) en función de los 4 grupos en estudio por formación de neoíntima (AN), índice AN/LEE y REESTENOSIS veríamos que hay diferencias significativas en las variables de proliferación: área de la neoíntima ($p = 0,001$), en el índice ANLEE ($p = 0,001$) y la variable REESTENOSIS ($p = 0,001$), además el análisis de contraste “post hoc” (Test de Tukey) nos permite mostrar las diferencias entre pares de grupos para las variables mencionadas (tabla XVIII).

Tabla XVIII. Pruebas de contraste (Tukey) entre grupos con daño vascular tipo 2 (IS2) para AN, AN/LEE y REESTENOSIS

	<i>AN (p)</i>	<i>AN/LEE (p)</i>	<i>REESTENOSIS (p)</i>
P5/T0,5 vs P5/T1	0,995	0,984	0,973
P5/T0,5 vs BARE	0,018	0,019	0,042
P5/T0,5 vs P5	0,001	0,001	0,003
P5/T1 vs BARE	0,103	0,033	0,050
P5/T1 vs P5	0,008	0,002	0,005
BARE vs P5	0,268	0,224	0,335

Sin embargo no hubo diferencias entre los stent con diferentes dosis de paclitaxel (P5/T0,5 vs P5/T1), teniendo un comportamiento muy similar en las variables analizadas, tanto del tamaño del vaso como de la proliferación neointimal. El grupo P5/T0,5 (paclitaxel 0,17 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$) mostró diferencias significativas en las variables de proliferación (AN, AN/LEE y REESTENOSIS), con el grupo BARE y con el grupo P5, lo que demuestra el efecto del fármaco sobre la respuesta proliferativa.

El grupo P5/T1 (paclitaxel 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$) con daño vascular tipo 2 (IS2) mostró diferencias significativas con el grupo P5 en todas las variables de proliferación. Comparado con el grupo BARE, se demostró una reducción del área del área de neoíntima (1,65 mm^2 vs 2,40 mm^2 ; $p = 0,103$), que no alcanzó significación estadística, probablemente por el escaso número de casos, si bien, cuando se corrigió el área de neoíntima por el tamaño del vaso (índice AN/LEE), las diferencias fueron significativas ($p = 0,03$). La variable derivada REESTENOSIS, mostró diferencias significativa entre ambos grupos ($p = 0,05$).

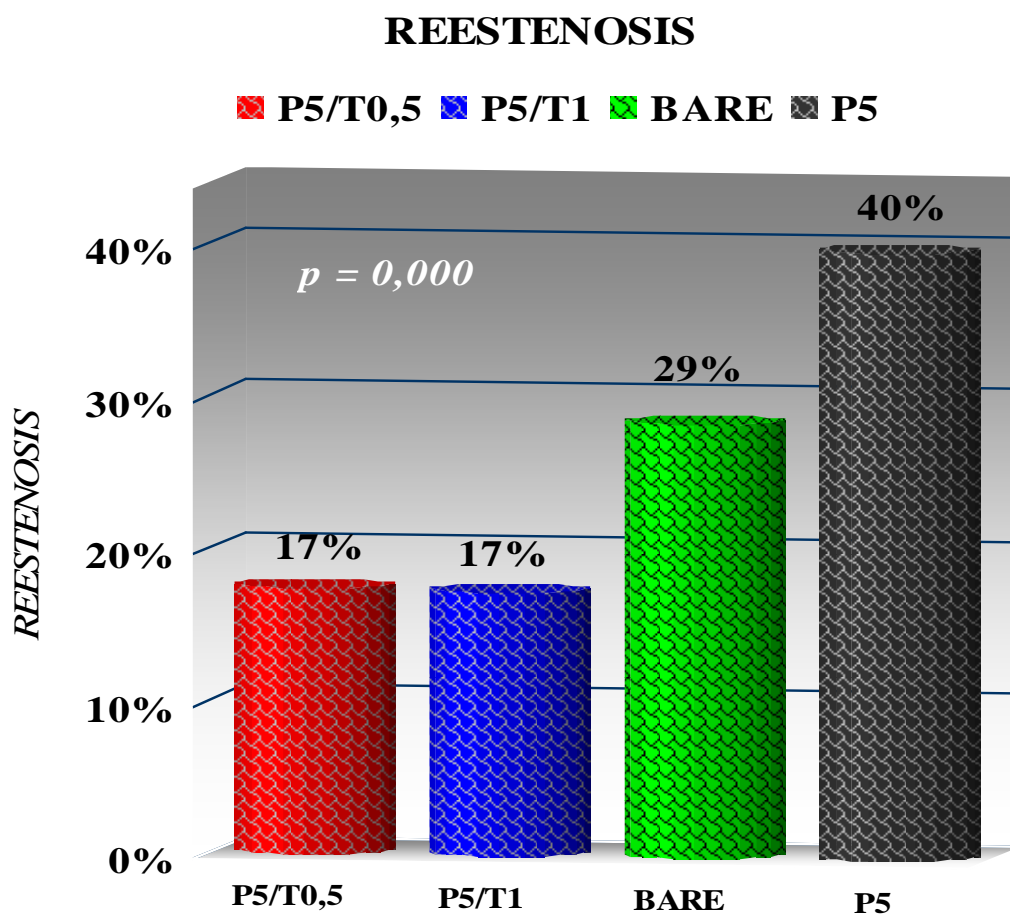
No se establecieron diferencias significativas entre el grupo BARE y P5 en ninguna de las variables de proliferación, si bien, el comportamiento del BARE fue superior al P5 en todas las variables.

En cuanto a la REESTENOSIS calculada en porcentaje, según la fórmula ya conocida, el promedio fue del 22,89% para el conjunto de stents, y por grupo de estudio los que menos reestenosis provocaron fueron los recubiertos con polímero y paclitaxel con mínimas diferencias entre las dosis baja y alta (17,49% por 17,33% respectivamente) y los que más aquellos recubiertos sólo con polímero P5 (39,91%, más del doble de los que llevaban paclitaxel) por un 28,52% de reestenosis para el grupo de

stent BARE. En cualquier caso, las diferencias estadísticamente significativas lo fueron entre los grupos (tabla XII y figura 42) P5/T0,5 y P5/T1 con los grupos BARE y P5 (tabla XVII).

Luego los stents recubiertos con paclitaxel fueron más eficaces que los otros dos grupos, aunque sin diferencias entre ellos en la inhibición de la respuesta proliferativa. Y aunque tanto el grupo de stent desnudo como el recubierto con sólo polímero P5 incrementan la reestenosis respecto a los de paclitaxel en una y media y dos veces más respectivamente, las diferencias entre ambos no son de significación estadística.

Figura 42. P5/T 0,5 vs P5/ T 1 vs BARE vs P5. REESTENOSIS en cada grupo de tratamiento.



Con el fin de relacionar las variables significativas AN, AN/LEE y REESTENOSIS se efectuó un modelo de regresión lineal cuyos resultados se muestran en la tabla XIX.

Los resultados indican que en cada uno de los grupos, existe una fuerte correlación positiva entre REESTENOSIS y las variables de proliferación AN (área de neointima) e índice AN/LEE (índice de área de neointima / lámina elástica externa). La correlación entre la REESTENOSIS y el índice AN/LEE en cada grupo de tratamiento ($r^2 = 0,97$; $r^2 = 0,99$; $r^2 = 0,98$, $r^2 = 0,90$, respectivamente) permite afirmar que más del 90% de la variabilidad de la reestenosis es explicada por este índice.

Tabla XIX. Coeficientes de regresión y valor de p para cada grupo de tratamiento

	P5/T0,5	P5/T1	BARE	P5
AN-REES: r	0,864	0,946	0,995	0,931
AN-REES: r²	0,747	0,895	0,912	0,867
AN-REES: p	0,001	0,001	0,001	0,002
AN- AN/LEE: r	0,874	0,954	0,968	0,927
AN- AN/LEE: r²	0,764	0,910	0,937	0,859
AN- AN/LEE: p	0,001	0,001	0,001	0,003
AN/LEE-REES: r	0,985	0,997	0,991	0,950
AN/LEE-REES: r²	0,970	0,994	0,982	0,903
AN/LEE-REES: p	0,001	0,001	0,001	0,001

AN: área de neointima. REES: reestenosis. AN/LEE: índice área neointima / lámina elástica externa.

HISTOMORFOMETRÍA EN FUNCIÓN DE LA ARTERIA IMPLANTADA INDEPENDIENTE DEL STENT

La tabla XX muestra los valores de las variables histomorfométricas para cada arteria poststent independientemente del tipo de stent colocado. A señalar que aunque para cada variable en cada una de las arterias se midieron valores diferentes, o ligeramente diferentes, nunca fueron significativos ($p > 0,05$).

Tabla XX. Valores medios de las variables cuantitativas y cálculos derivados, en función de la arteria dónde fue implantado el stent. Los valores están representados como media (intervalo de confianza al 95 %).

Arteria	Cx (n=15)	CD (n=18)	DA (n=14)	p
LEE (mm ²)	10,94 (10,17-11,71)	11,43 (10,38-12,48)	9,99 (9,34-10,65)	0,059
LEI (mm ²)	9,05 (8,39-9,70)	9,45 (8,59-10,30)	8,33 (7,67-9,00)	0,095
ATM (mm ²)	1,88 (1,45-2,31)	1,98 (1,65-2,30)	1,66 (1,46-1,85)	0,356
AN (mm ²)	2,33 (1,68-2,97)	2,06 (1,5-2,61)	1,75 (1,14-2,30)	0,346
AL (mm ²)	6,71 (5,67-7,76)	7,39 (6,74-8,03)	6,61 (5,69-7,52)	0,322
PI (atmósferas)	13,2 (12,19-14,20)	14,22 (13,04-15,39)	14,71 (13,4-15,9)	0,163
Índice AN/LEE	0,21 (0,15-0,27)	0,17 (0,13-0,21)	0,17 (0,11-0,23)	0,440
Reestenosis (%)	26,54 (17,9-35,19)	21,21 (16,78-25,64)	21,13 (13,6-28,6)	0,401

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE. Índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. Cx: arteria circunfleja. CD: arteria coronaria derecha. DA: arteria descendente anterior.

Pero a pesar de no existir diferencias estadísticamente significativas, al medir la respuesta proliferativa por **el área de neointima (AN), fue la arteria de circunfleja, la arteria que obtuvo mayor área de neoformación**, incluso cuando se corrigió esta variable (AN), por el área del calibre del vaso (AN/LEE) y también la de mayor tasa de reestenosis. Es probable, que el arco de curvatura del vaso no permita siempre una buena aposición de los extremos del stent a la concavidad de la pared arterial y se ejerza mayor fuerza de apoyo (daño arterial) en la porción central e interna del mismo.

En cuanto al daño vascular (IS) la tabla XXI muestra el número de arterias con daño vascular IS 1 ó IS 2 y al comparar el tipo de daño vascular (IS 1 vs IS 2) en función de la arteria dónde fue implantado el stent **no se observaron diferencias estadísticas al relacionar la arteria dónde fue implantado el stent y el daño vascular (IS 1 vs IS 2)**. Cabe destacar que aproximadamente cada arteria recibió una tercera parte de los stent implantados, pero mientras que en la arteria circunfleja y en la descendente anterior, el 57% de los stent implantados presentaron daño vascular tipo 2 (IS2), sólo el 25% de los implantados en la coronaria derecha presentaron el mismo grado de daño vascular (IS 2).

Tabla XXI. Tabla de contingencia: Daño Vascular (IS 1 vs IS 2) en función de la arteria implantada.

	Arteria Circunfleja	Coronaria Derecha	Descendente Anterior	Total
IS 1	6	12	6	24
IS 2	8	4	8	20
Total	14	16	14	44

Chi² = 4,243; p = 0,120

Los resultados obtenidos en la tabla XXI de la aplicación del test de la Chi², dado que existe una casilla con menos de 5 casos, fue confirmado por medio de la realización del test exacto de Fisher obteniéndose un valor de p de 0,00776.

Por otro lado la influencia que las variables histomorfométricas tienen sobre el daño vascular se muestra en la tabla XXII. Del análisis deducimos que la respuesta al incremento del daño en la pared arterial se tradujo en una **retracción significativa (remodelado negativo)** del área del vaso de 1,3 mm² en términos absolutos y de un el 12% en términos relativos que afecta tanto a la capa de túnica media como a la lámina elástica interna.

En general la respuesta al incremento de daño vascular, valorado por el injury score, se tradujo en un aumento de las variables que expresan proliferación neointimal, tales como AN, AN/LEE y sobre todo la REESTENOSIS que fue significativamente mayor en el grupo con IS2.

Tabla XXII. Valores medios de las variables cuantitativas en función del Injury Score . Los valores están representados como media (desviación estándar).

Variables	IS 1 (n=24)	IS 2 (n=20)	p
LEE (mm²)	11,33 (1,64)	10,00 (1,29)	0,005
LEI (mm²)	9,49 (1,38)	8,38 (1,32)	0,010
ATM (mm²)	1,84 (0,38)	1,62 (0,29)	0,044
AN (mm²)	1,70 (1,10)	2,28 (1,8)	0,062
AL (mm²)	7,78 (0,91)	6,09 (1,48)	0,001
PI (atmósferas)	13,95 (2,17)	14,45 (2,18)	0,461
Índice AN/LEE	0,14 (0,05)	0,22 (0,10)	0,003
Reestenosis (%)	17,41 (6,88)	27,23 (12,23)	0,003

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. IS: injury score (daño arterial).

En esta línea, si independientemente de la arteria y del stent implantado, quisiéramos ver y valorar las relaciones entre las diferentes variables histomorfométricas comprobaríamos a través de modelos de regresión lineal una correlación positiva y significativa entre LEE y LEI, ATM, AN y AL (tabla XXIII y figura 43); entre LEI y ATM, AN, AL (tabla XXIV y figura 44); entre AL y AN, AN/LEE, REES (tabla XXV y figura 45); entre ATM y AN, REES (tabla XXVI); entre AN y AN/LEE, REES (tabla XXVII y figura 46); entre REES y AN/LEE (tabla XXVIII y figura 47).

Tabla XXIII. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable LEE.

Variable	LEI	ATM	AN	AL	PI	AN/LEE	REES
LEE: r	0,935	0,570	0,368	0,596	0,086	0,065	0,072
LEE: r ²	0,875	0,325	0,136	0,356	0,007	0,004	0,005
LEE: p	0,001	0,001	0,011	0,000	0,566	0,666	0,632

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Fig. 43. Recta de regresión de la lámina elástica externa y lámina elástica interna

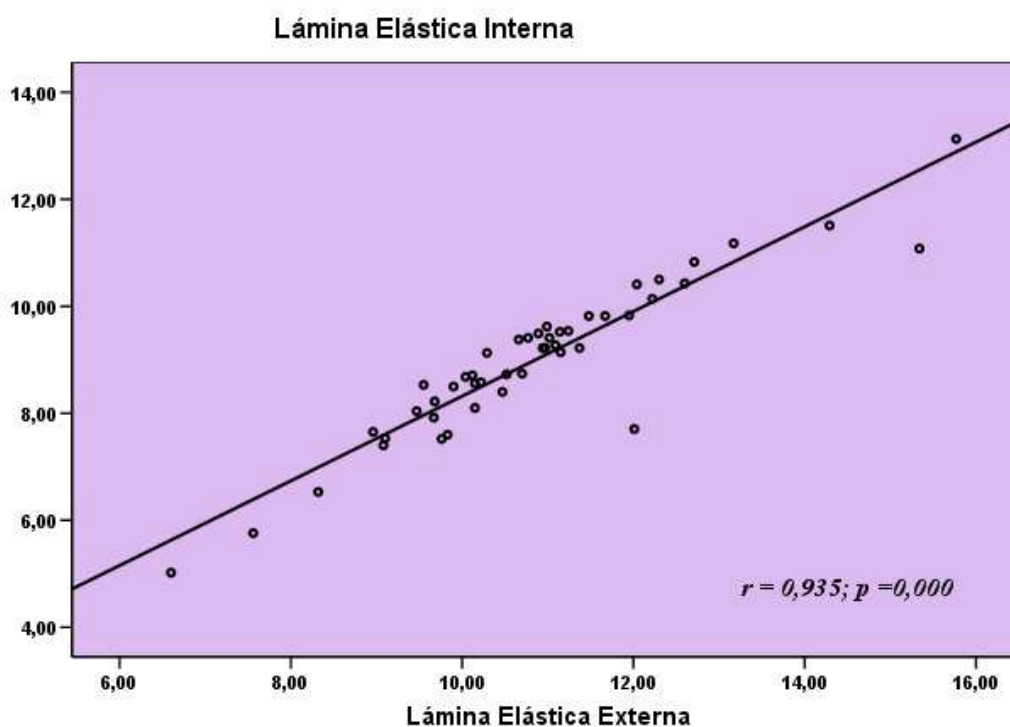


Tabla XXIV. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable LEI.

Variable	LEE	ATM	AN	AL	PI	AN/LEE	REES
LEI: r		0,242	0,245	0,741	0,020	0,041	0,089
LEI: r ²		0,058	0,60	0,549	0,001	0,02	0,008
LEI: p	0,001	0,102	0,097	0,001	0,894	0,785	0,551

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Figura 44. Recta de regresión de la lámina elástica interna y el área de la luz del vaso.

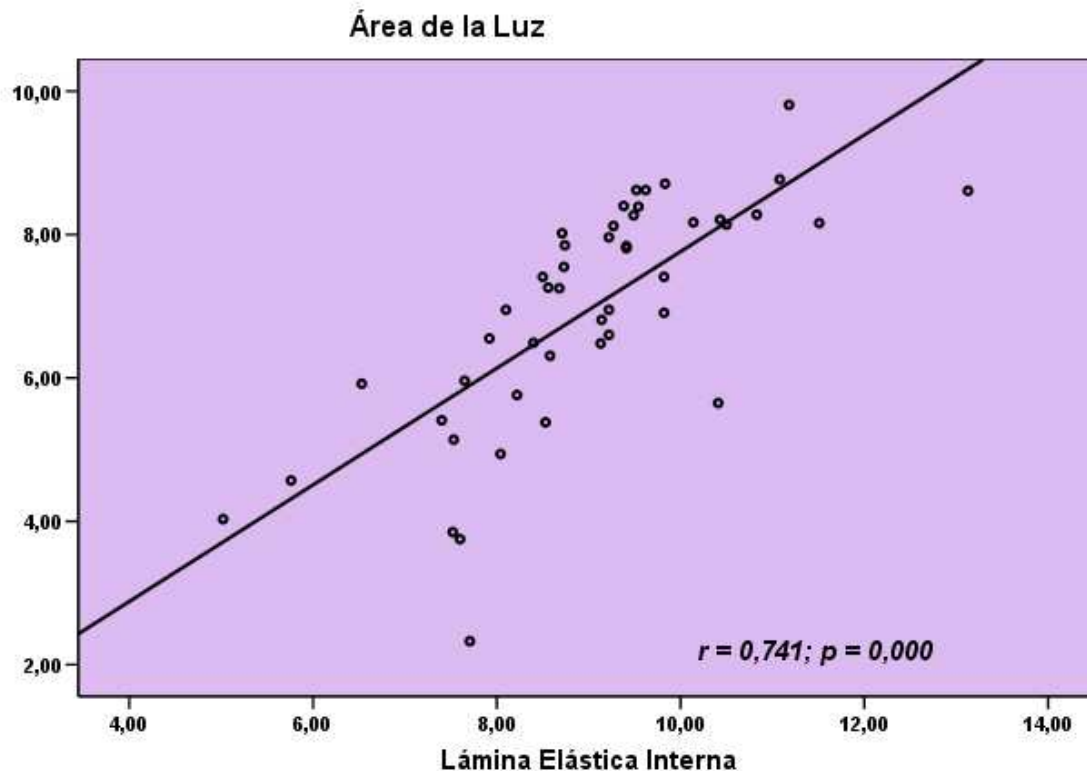


Tabla XXV. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable área de la luz (AL).

Variable	LEE	ATM	AN	LEI	PI	AN/LEE	REES
AL: r		0,084	0,470		0,077	0,691	0,729
AL: r ²		0,007	0,221		0,006	0,478	0,531
AL: p	0,001	0,573	0,001	0,001	0,609	0,001	0,001

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Figura 45. Recta de regresión del área de la luz del vaso e índice AN/LEE

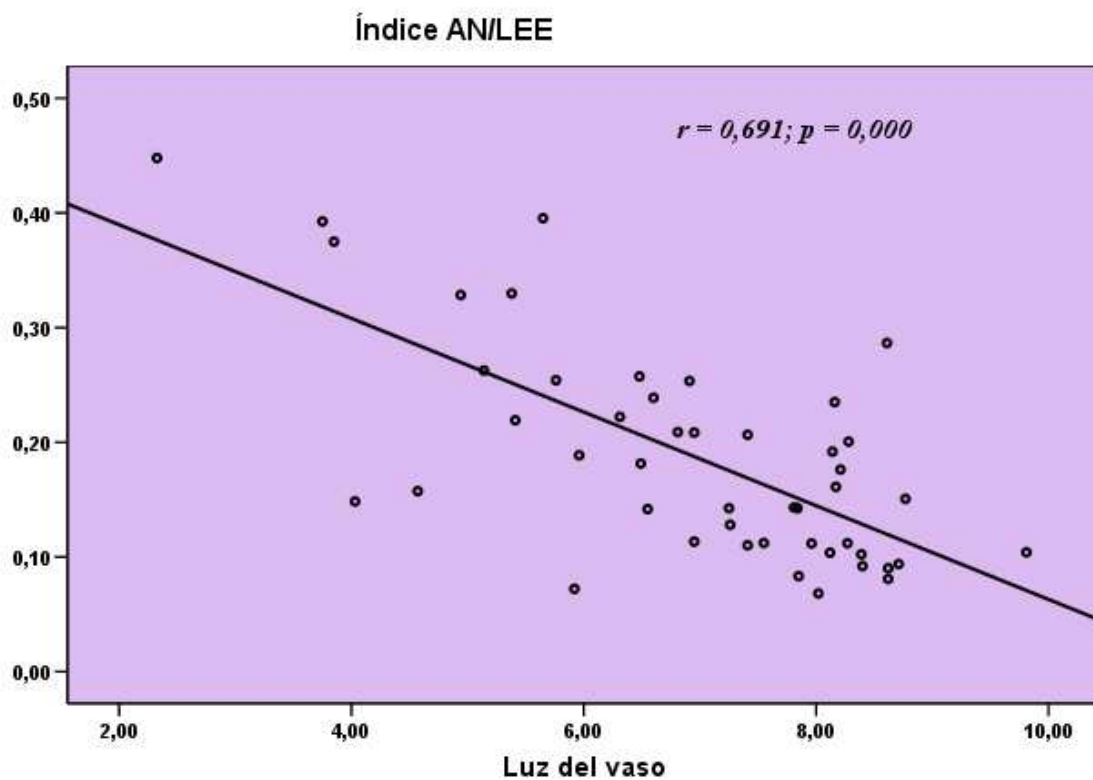


Tabla XXVI. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable área de la capa túnica media (ATM).

Variable	LEE	LEI	AN	AL	PI	AN/LEE	REES
ATM: r			0,440		0,189	0,271	0,402
ATM: r ²			0,194		0,036	0,073	0,162
ATM: p	0,001	0,102	0,002	0,573	0,204	0,066	0,005

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Tabla XXVII. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable área de neoíntima (AN).

Variable	LEE	ATM	LEI	AL	PI	AN/LEE	REES
AN: r					0,086	0,944	0,934
AN: r ²					0,568	0,891	0,873
AN: p	0,011	0,002	0,097	0,001	0,568	0,001	0,001

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Figura 46. Recta de regresión del área de neointima y el índice AN/LEE.

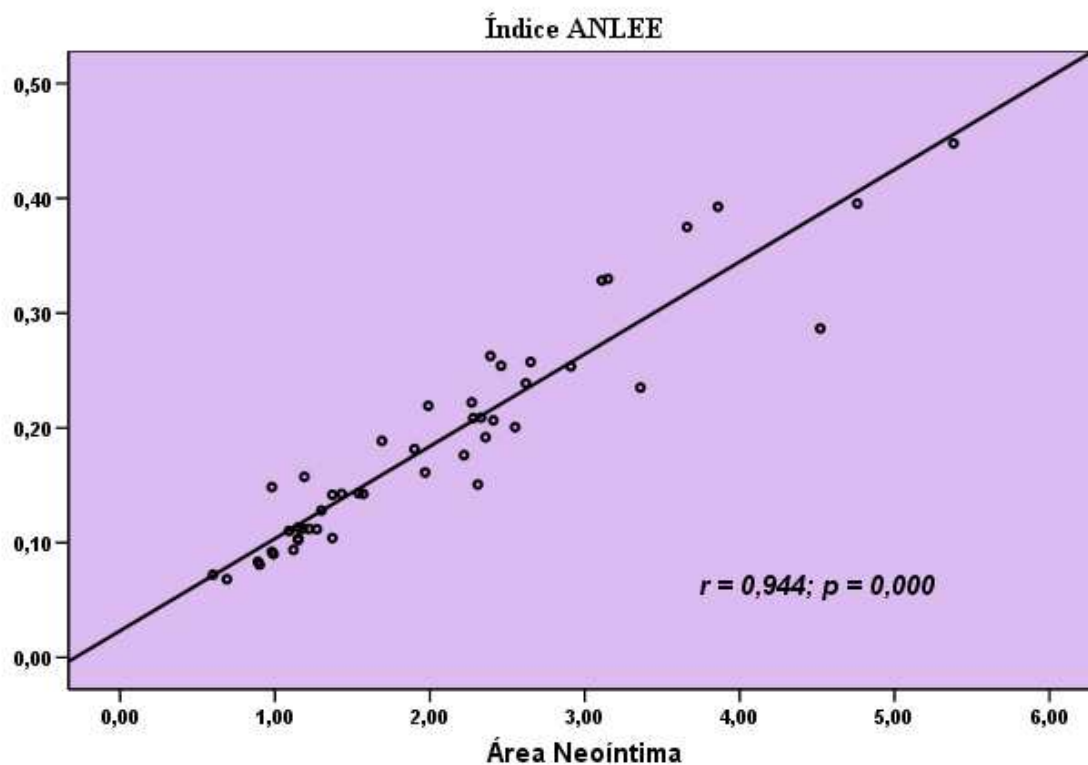
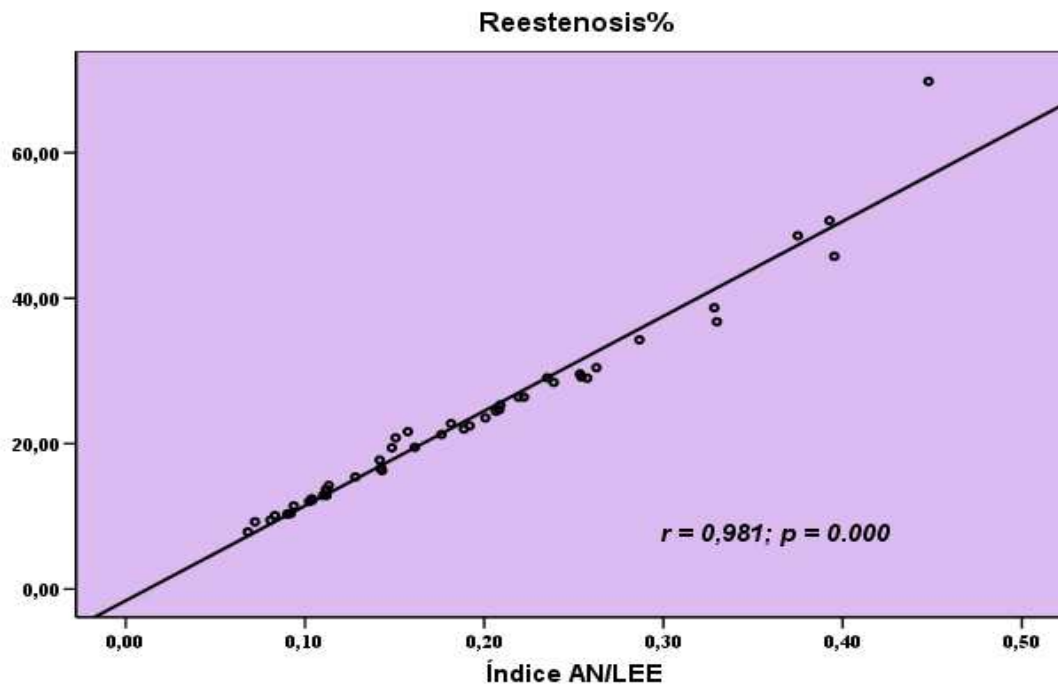


Tabla XXVIII. Coeficientes de regresión y valor de p de la variable REES.

Variable	LEE	ATM	AN	AL	PI	AN/LEE	LEI
REES: r					0,091	0,981	
REES: r ²					0,008	0,962	
REES: p		0,005	0,001	0,001	0,544	0,001	

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neointima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neointima y la lámina elástica externa. REES: reestenosis.

Figura. 47. Recta de regresión entre el índice AN/LEE y Reestenosis.



HISTOMORFOMETRÍA POR GRUPOS DE STENT AGRUPADOS CON Y SIN PACLITAXEL PARA TODAS LAS VARIABLES

Puesto que nuestro mayor interés es valorar la eficacia de los stents con paclitaxel y dada la escasa relevancia estadística de la diferencia entre los grupos con distintas concentraciones de paclitaxel (no existe diferencia significativa del test de Tukey para las variables AL, AN, AN/LEE, BARE y REESTENOSIS), los cuatro grupos iniciales se agruparon en solamente dos:

- **El grupo 1 con paclitaxel (Grupo P5/T)** formado por segmentos de arterias coronarias dónde fue implantado un stent recubierto con paclitaxel, independientemente de la dosis de fármaco, (**grupo stent fármaco-activo, 31 casos**)

- El grupo 2, sin paclitaxel (Grupo BARE/P5) formado por segmentos de arterias coronarias dónde fue implantado un stent sin recubrimiento con paclitaxel (grupo stent no fármaco-activo, 16 casos).

La tabla XXIX muestra los promedios de las variables en estudio en los dos grupos, constatándose que para las variables LEE, LEI, ATM y PI las diferencias no eran significativas entre los stents con y sin paclitaxel. Por consiguiente de estos datos se puede desprender, que **el paclitaxel no tiene relevancia sobre el tamaño final del vaso, como respuesta al estiramiento del mismo**, producido por la expansión de un stent.

Tabla XXIX. Valores medios de las variables cuantitativas entre los grupos P5/T y Bare/P5. Los valores están representados como media (desviación estándar).

<i>Variables</i>	<i>P5/T</i> (<i>n=31</i>)	<i>BARE/P5</i> (<i>n=16</i>)	<i>p</i>
<i>LEE (mm²)</i>	10,97 (1,90)	10,60 (1,29)	0,490
<i>LEI (mm²)</i>	9,10 (1,57)	8,76 (1,20)	0,453
<i>ATM (mm²)</i>	1,86 (0,57)	1,83 (0,74)	0,878
<i>AN (mm²)</i>	1,61 (0,84)	2,88 (1,10)	0,001
<i>AL (mm²)</i>	7,49 (1,22)	5,88 (1,72)	0,001
<i>PI (atmósferas)</i>	13,80 (2,25)	14,50 (2,06)	0,310
<i>Índice AN/LEE</i>	0,14 (0,05)	0,27 (0,09)	0,001
<i>Reestenosis (%)</i>	17,41 (6,86)	33,50 (14,36)	0,001

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa.

Sin embargo las variables que de alguna manera indican la respuesta proliferativa a la implantación de un stents, mostraron diferencias significativas entre ambos grupos de estudio, tales como el área de la luz (AL) que se redujo en un 78%, el área de la neointima con un incremento del 79% y las variables derivadas, índice AN/LEE y REESTENOSIS tuvieron un incremento superior al 90%. Por consiguiente estos resultados muestran que el **grupo de paclitaxel (P5/T) tuvo una respuesta proliferativa significativamente menor, expresada por un incremento del área de la luz del vaso y una reducción del área de neointima.**

En referencia al daño vascular (IS 1 y IS 2) en ambos grupos, según muestra la tabla XXX y el análisis de chi cuadrado, los stents con paclitaxel (grupo 1) tuvieron significativamente menos daño vascular (integridad de la LEI en el 69% de los casos).

Tabla XXX. Tabla de contingencia: Grupo de Stent en función de Daño Vascular.

	Daño Vascular 1	Daño Vascular 2	Total
Grupo 1: P5/T	20	9	29
Grupo 2: BARE/P5	4	11	15
Total	24	20	44

$$Chi^2 = 7,134; p = 0,008$$

El análisis microscópico de los 29 stents con paclitaxel tanto con IS 1 como con IS 2 reveló una respuesta proliferativa neointimal y estenosis de la luz de diferentes magnitudes en función del grado de daño vascular (IS). Los resultados se muestran en la tabla XXXI. Los datos indican que de todas las variables histomorfométricas solo la LEE y LEI mostraron diferencias estadísticamente significativas. Así el tamaño del vaso

disminuyó con daño vascular tipo 2 (IS 2), lo que **sugiere un remodelado negativo en función del incremento del daño en la pared vascular**. También el área de la LEI disminuyó, con una reducción del 13% y un índice de remodelado (LEE IS 1 / LEE IS 2) de 1,15.

Tabla XXXI. Valores medios de las variables analizadas en el grupo P5/T, en función del daño vascular (Injury Score). Los valores están representados como media (desviación estándar).

<i>P5/T</i>	<i>IS 1</i> (<i>n=20</i>)	<i>IS 2</i> (<i>n=9</i>)	<i>p</i>
<i>LEE (mm²)</i>	11,30 (1,67)	9,81 (1,65)	0,034
<i>LEI (mm²)</i>	9,45 (1,40)	8,20 (1,66)	0,046
<i>ATM (mm²)</i>	1,85 (0,40)	1,60 (0,19)	0,092
<i>AN (mm²)</i>	1,66 (0,95)	1,40 (0,61)	0,464
<i>AL (mm²)</i>	7,78 (0,87)	6,79 (1,65)	0,122
<i>PI (atmósferas)</i>	14,00 (2,10)	13,88 (2,57)	0,903
<i>Índice AN/LEE</i>	0,14 (0,05)	0,14 (0,05)	0,894
<i>Reestenosis (%)</i>	16,92 (7,13)	17,52 (7,08)	0,834

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. IS: daño vascular.

Para el resto de las variables el incremento del daño vascular no mostró diferencias estadísticamente significativas en la respuesta proliferativa, valorada por el área de neoíntima (AN y AN/LEE) y el porcentaje de estenosis de la luz (REESTENOSIS). Probablemente, **es el**

efecto antiproliferativo del paclitaxel el que minimiza el aumento de la hiperplasia neointimal, en respuesta al incremento de daño en la pared

De los 15 stent sin paclitaxel y tanto con IS 1 como con IS 2, la tabla XXXII muestra los valores promedio de las variables en estudio, encontrándose que en función del daño vascular solo hay diferencias significativas para las variables AN, AL, AN/LEE y REESTENOSIS, que de alguna manera valoran la respuesta proliferativa al daño vascular.

Tabla XXXII. Valores medios de las variables analizadas en el grupo BARE/P5, en función del daño vascular (Injury Score). Los valores están representados como media (desviación estándar).

BARE/P5	IS 1 (n=4)	IS 2 (n=11)	P
LEE (mm²)	11,48 (1,70)	10,16 (0,96)	0,077
LEI (mm²)	9,70 (1,43)	8,52 (1,02)	0,098
ATM (mm²)	1,77 (0,34)	1,63 (0,37)	0,510
AN (mm²)	1,93 (0,65)	3,00 (0,82)	0,037
AL (mm²)	7,77 (1,23)	5,52 (1,09)	0,005
PI (atmósferas)	13,75 (2,87)	14,90 (1,81)	0,363
Índice AN/LEE	0,16 (0,05)	0,29 (0,07)	0,007
Reestenosis (%)	19,85 (5,66)	35,17 (9,5)	0,010

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neointima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neointima y la lámina elástica externa. IS: grado de daño vascular.

Así estos resultados confirman que el incremento del grado de daño vascular, se relaciona con incremento significativo de la respuesta

proliferativa valorada por el área de neoíntima, índice AN/LEE y la variable derivada REESTENOSIS. Por otro lado nuestros datos señalan que tanto el grupo 1 de stents como paclitaxel como el grupo 2 sin paclitaxel exhibían casos con daño vascular tipo 1 (IS 1), es decir con integridad de la íntima y deseábamos saber que ocurría con sus variables histomorfométricas. La tabla XXXIII muestra sus promedios en ambos grupos en función del IS 1 y nos muestra que para ninguna de ellas las diferencias son significativas.

Tabla XXXIII. P5/T (IS 1) y BARE/P5 (IS 1). Valores medios de las variables. Los valores están representados como media (desviación estándar).

<i>IS 1</i>	<i>P5/T</i> (<i>n=20</i>)	<i>BARE/P5</i> (<i>n=4</i>)	<i>P</i>
<i>LEE (mm²)</i>	11,30 (1,6)	11,48 (1,70)	0,851
<i>LEI (mm²)</i>	9,45 (1,40)	9,70 (1,43)	0,751
<i>ATM (mm²)</i>	1,85 (0,40)	1,77 (0,34)	0,728
<i>AN (mm²)</i>	1,66 (0,95)	1,93 (0,65)	0,601
<i>AL (mm²)</i>	7,78 (0,87)	7,77 (1,23)	0,997
<i>PI (atmósferas)</i>	14,00 (2,10)	13,75 (2,87)	0,839
<i>Índice AN/LEE</i>	0,14 (0,05)	0,16 (0,05)	0,397
<i>Reestenosis (%)</i>	16,92 (7,13)	19,85 (5,65)	0,450

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre AN y LEE. IS: daño vascular.

Estos resultados podrían apoyar la siguiente observación, que se deduce del modelo de arteria: **la retracción o remodelado negativo del**

vaso ante el estiramiento tras la expansión de un stent, está relacionado con el grado de daño en la pared vascular y no con el tipo de stent implantado.

Así mismo en el grupo P5/T (IS1), probablemente por efecto del fármaco antiproliferativo (paclitaxel), se detectó una tendencia a disminuir la respuesta proliferativa en comparación con el grupo BARE/P5 (IS1), el cual también mostró un incremento relativo del 16% en el área de la neointima, del 14% en el índice AN/LEE y del 17% en la variable derivada REESTENOSIS.

De igual manera como tanto el grupo de stent con paclitaxel como el de sin paclitaxel mostraban daño vascular tipo 2 (IS 2) con desaparición de la integridad de la LEI, ¿Qué ocurría con las variables histomorfométricas?

La tabla XXXIV señala sus promedios en ambos grupos en función del IS 2 y nos muestra que las variables AN, AL, índice AN/LEE y REESTENOSIS eran las que exhibían diferencias significativas, lo que concuerda con los hallazgos del análisis microscópico que reveló una respuesta proliferativa neointimal y estenosis de la luz de diferentes magnitudes en respuesta al daño vascular (IS 2) (figura 48).

Tabla XXXIV. P5/T (IS 2) vs BARE/P5 (IS 2). Valores medios de las variables analizadas . Los valores están representados como media (desviación estándar).

<i>IS 2</i>	<i>P5/T</i> (<i>n=9</i>)	<i>BARE/P5</i> (<i>n=11</i>)	<i>p</i>
<i>LEE (mm²)</i>	9,81 (1,65)	10,16 (0,96)	0,563
<i>LEI (mm²)</i>	8,20 (1,66)	8,52 (1,02)	0,601
<i>ATM (mm²)</i>	1,60 (0,19)	1,63 (0,37)	0,846
<i>AN (mm²)</i>	1,40 (0,61)	3,00 (0,82)	0,001
<i>AL (mm²)</i>	6,79 (1,65)	5,52 (1,09)	0,054
<i>PI (atmósferas)</i>	13,88 (2,57)	14,90 (1,81)	0,312
<i>Índice AN/LEE</i>	0,14 (0,05)	0,29(0,07)	0,001
<i>Reestenosis (%)</i>	17,52 (7,08)	35,17 (9,50)	0,001

LEE: lámina elástica externa. LEI: lámina elástica interna. ATM: área de la túnica media. AN: área de neoíntima. AL: área de la luz del vaso. PI: presión de inflado. AN/LEE: índice entre el área de neoíntima y la lámina elástica externa. IS: daño vascular.

Figura 48. Histología. Izquierda: daño vascular tipo 1 (IS 1: integridad de la LEI). Derecha: daño vascular tipo 2 (IS 2: rotura de la LEI).



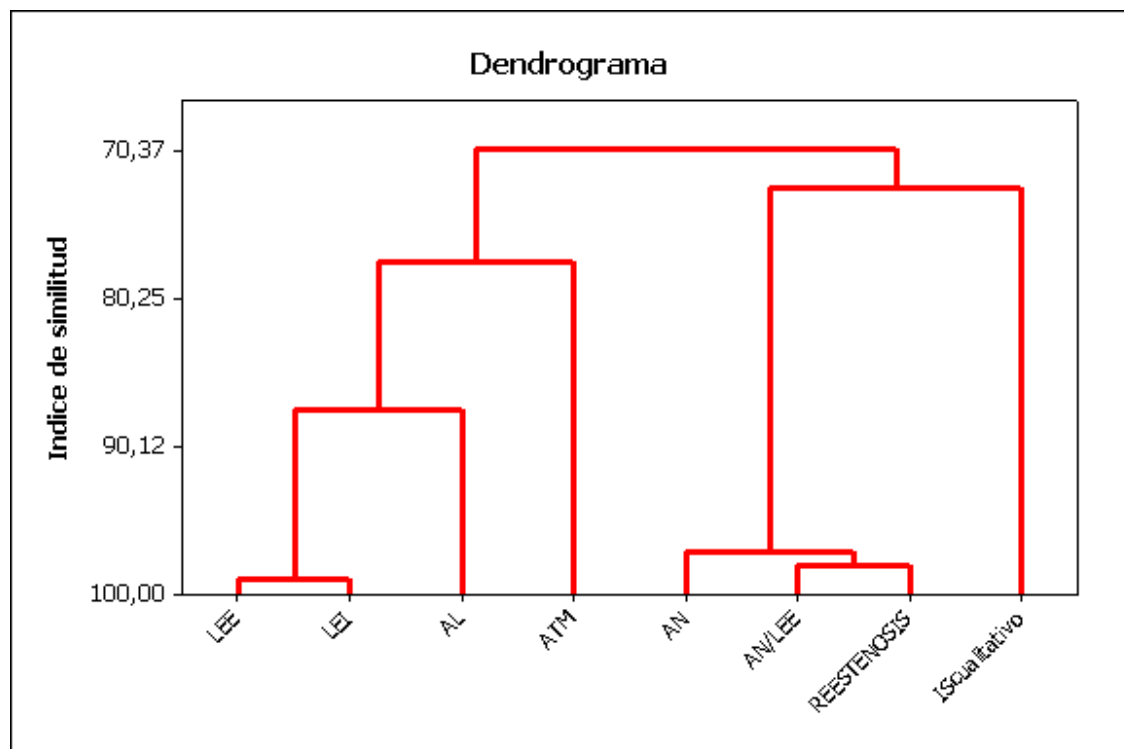
En suma estos resultados confirman que en nuestro modelo porcino de arteria sana, la retracción o remodelado negativo del vaso ante el estiramiento tras la expansión de un stent, está relacionado con el grado de daño en la pared vascular y no con el tipo de stent implantado. **A la misma intensidad de daño vascular (IS), el comportamiento del tamaño del vaso (remodelado) es el mismo.** Por otro lado como la respuesta proliferativa al daño vascular tipo 2 (IS2), valorada por el área de neoíntima (AN y AN/LEE), y el porcentaje de estenosis de la luz (REESTENOSIS), mostró diferencias muy significativa entre ambos grupos con aumentos muy importantes en el grupo sin paclitaxel. **Estos resultados confirman la potente acción antiproliferativa del grupo de paclitaxel.**

5.3. ESTADÍSTICA MULTIVARIANTE

ANÁLISIS DE CONGLOMERADOS. ESTUDIO DE LA RELACIÓN ENTRE LAS VARIABLES A TRAVÉS DE UN DENDOGRAMA.

A la vista de los resultados de la figura 49, las variables LEE y LEI presentan un alto índice de similitud. Un índice semejante es el de las variables AN/LEE y REESTENOSIS. Estas dos últimas variables también son muy similares a AN. Las similitudes encontradas por medio de esta técnica están en línea con las correlaciones previamente detectadas entre las diferentes variables.

Figura 49. Dendrograma que muestra el nivel de similitud de las variables del estudio.



ANÁLISIS DISCRIMINANTE. MODELOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL TIPO DE DAÑO VASCULAR (IS) EN FUNCIÓN DE LOS FACTORES DE MAYOR INFLUENCIA.

MODELO MATEMÁTICO CON LAS VARIABLES DE PARTIDA LEI, AN, LEE, ATM, AL, AN/LEE, REESTENOSIS Y PRESIÓN.

En el presente apartado se emplea el análisis discriminante para el cálculo del IS en función de las variables: LEI, AN, LEE, ATM, AL, AN/LEE, REESTENOSIS y PRESIÓN. El análisis discriminante sirve para clasificar las observaciones en dos grupos o más. En el presente apartado se emplea para clasificar en función del valor del Injury Score.

En una primera aproximación, el algoritmo descartó la variable LEI debido a la alta correlación que ésta presentaba con otras de las variables seleccionadas para la realización del modelo. Del análisis de la figura 49 se observa que la variable LEE presenta un índice de similitud cercano a 100 con respecto a la variable LEI. De igual manera el algoritmo también indicó que existía una alta correlación de las variables REESTENOSIS y LEE con otras de las presentes en el modelo. En el caso de la variable reestenosis ésta posee un índice de similitud muy cercano a 100 con respecto a las variables AN y AN/LEE mientras que en el caso de la variable LEE ésta es descartada por el modelo dado que la variable AN/LEE ya la contiene en su denominador. Finalmente, el primer modelo discriminante calculado contiene como variables predictoras: AN, ATM, AL, AN/LEE y PRESIÓN.

Tabla XXXV. Matriz de confusión para el modelo de IS con las variables predictoras AN, ATM, AL, AN/LEE y PRESION.

Summary of Classification with Cross-validation		
	True Group	
Put into Group	1	2
1	20	6
2	4	14
Total N	24	20
N correct	20	14
Proportion	0,833	0,700

N = 44 N Correct = 34 Proportion Correct = 0,773

En la tabla XXXV se presenta un resumen de los valores de clasificación con validación cruzada. En columnas figuran los verdaderos grupos a los que pertenecen cada uno de los stents mientras que en las filas están los grupos de IS en los que el modelo los clasificó. Así, por ejemplo, se puede observar que de los 24 casos con IS=1, 20 fueron clasificados en el grupo 1 y 4 en el 2. De igual manera, de los 20 casos con IS=2, 6 se clasificaron el grupo 1 y los 14 restantes en el grupo 2. Es decir, el modelo acierta más clasificando en el grupo de IS=1 (83,30%) que en el de IS=2 (70%). Por tanto, se puede afirmar que el modelo subestima la proporción de roturas de láminas internas. A pesar de esto, la tasa global de aciertos es considerable pues alcanza al 77,30% de los casos. En la tabla XXXVI se presentan los coeficientes de la función lineal discriminante.

Tabla XXXVI. Coeficientes de la función lineal discriminante.

Linear Discriminant Function for Groups		
	1	2
Constant	-183,1	-183,1
AN	-81,7	-84,1
ATM	29,0	26,9
AL	29,8	29,6
AN/LEE	1165,5	1208,3
PRESION	3,7	3,8

Tabla XXXVII. Lista de casos que no son correctamente clasificados por el modelo discriminante.

Número de la observación	Grupo verdadero	Predicción	Tipo de Stent
5	1	2	P5/T1
9	2	1	P5/T1
10	1	2	BARE
23	2	1	P5/T0.5
28	2	1	P5/T0.5
31	2	1	P5/T1
32	2	1	P5/T0.5
33	1	2	P5/T1
40	1	2	P5/T1
44	2	1	P5/T1

Finalmente, la tabla XXXVII muestra las observaciones que el modelo clasifica de forma errónea. Como se puede observar la mayoría corresponden a stents con paclitaxel.

DETERMINACIÓN DEL MODELO ÓPTIMO A PARTIR DE LAS VARIABLES AN, ATM, AL, AN/LEE y PRESIÓN.

El objetivo del presente apartado es la determinación del modelo discriminante óptimo tomando como punto de partida el modelo discriminante con el mayor número de variables del estudio que se pueden considerar simultáneamente y que fue calculado en el apartado anterior.

Para la realización de dicho modelo se procedió a la eliminación de variables del modelo original, obteniéndose una serie de nuevos modelo discriminantes en los que se calculó aplicando validación cruzada el porcentaje de casos que clasificaban de manera correcta. Así, en la tabla XXXVIII se muestra el porcentaje de acierto de los modelos discriminantes realizados a partir del modelo que contiene las variables AN, ATM, AL,

AN/LEE y PRESIÓN eliminando cada vez una variable distinta. A la vista de los resultados obtenidos se optó por eliminar la variable ATM pues el modelo que se obtiene sin dicha variable eleva el porcentaje de clasificaciones correctas hasta el 81,80%. Si se procede de manera análoga partiendo del modelo formado por las variables AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN y se calculan los modelos discriminantes que resultan de la eliminación una por una de cada variable, se obtienen los resultados que se muestran en la tabla XXXIX. Dado que el porcentaje de clasificación resultante si se prescinde de la variable AL o PRESIÓN es idéntico e igual al del modelo original se eliminó la variable PRESIÓN, quedando por tanto un modelo de tres variables formado por AN, AN/LEE y AL.

Tabla XXXVIII. Porcentaje de casos clasificados correctamente por validación cruzada en los modelos discriminantes obtenidos a partir del modelo con las variables AN, ATM, AL, AN/LEE y PRESIÓN.

Variable eliminada	Porcentaje clasificado correctamente (validación cruzada)
AN/LEE	72,70%
AN	75,00%
AL	79,50%
PRESIÓN	79,50%
ATM	81,80%

Tabla XXXIX. Porcentaje de casos clasificados correctamente por validación cruzada en los modelos discriminantes obtenidos a partir del modelo con las variables AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN.

Variable eliminada	Porcentaje clasificado correctamente (validación cruzada)
AN/LEE	79,50%
AN	79,50%
AL	81,80%
PRESIÓN	81,80%

Así, en la tabla XL se representan los porcentajes de clasificación que se obtienen de la aplicación del análisis discriminante a las variables AN, AL y AN/LEE eliminando una variable de cada vez. Por tanto y dado que el porcentaje de acierto se mantiene invariable se elimina del modelo la variable AL, quedando el modelo discriminante óptimo formado por las variables AN y AN/LEE.

Tabla XL. Porcentaje de casos clasificados correctamente por validación cruzada en los modelos discriminantes obtenidos a partir del modelo con las variables AN, AL y AN/LEE.

Variable eliminada	Porcentaje clasificado correctamente (validación cruzada)
AN/LEE	79,50%
AN	79,50%
AL	81,80%

La Tabla XLI contiene la matriz de confusión para el modelo de IS con las variables predictoras AN y AN/LEE. Este modelo es capaz de clasificar correctamente aplicando validación cruzada el 81,80% de las observaciones. Nótese que al igual que ocurría con el modelo que contenía las variables predictoras LEE, ATM, AL, PRESIÓN y REESTENOSIS clasifica mejor los casos de IS=1 que los de IS=2 (91,70% frente al 70%). Es decir, el modelo subestima la proporción de roturas de láminas internas pero posee una tasa global de aciertos que supera en 4,5% la capacidad global clasificadora del modelo de cinco variables. La tabla XLII muestra los coeficientes de la función lineal discriminante obtenida y en la tabla XLIII se presenta la lista de casos que no han sido correctamente clasificados por este modelo discriminante. Si se compara la tabla XLIII con la XXXVII se observa que las observaciones contenidas son las

mismas salvo la 5 y la 33 que el modelo discriminante de dos variables (AN y AN/LEE) sí es capaz de clasificar correctamente mientras que el de cinco no era capaz (LEE, ATM, AL, PRESIÓN y REESTENOSIS).

Tabla XLI. Matriz de confusión para el modelo de IS con las variables predictoras AN y AN/LEE.

Summary of Classification with Cross-validation		
Put into Group	True Group	
	1	2
1	22	6
2	2	14
Total N	24	20
N correct	22	14
Proportion	0,917	0,700
N = 44	N Correct = 36	
Proportion Correct = 0,818		

Tabla XLII. Coeficientes de la función lineal discriminante.

Linear Discriminant Function for Groups		
	1	2
Constant	-1,613	-4,838
AN	-0,189	-3,620
AN/LEE	24,459	77,967

Tabla XLIII. Lista de casos que no son correctamente clasificados por el modelo discriminante.

Número de la observación	Grupo verdadero	Predicción	Tipo de Stent
9	2	1	P5/T1
10	1	2	BARE
23	2	1	P5/T0.5
28	2	1	P5/T0.5
31	2	1	P5/T1
32	2	1	P5/T0.5
40	1	2	P5/T1
44	2	1	P5/T1

MODELO DE REGRESIÓN LINEAL MULTIVARIANTE PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRADO DE REESTENOSIS EN FUNCIÓN DE LOS FACTORES DE MAYOR INFLUENCIA.

El presente modelo se centra en la determinación del grado de REESTENOSIS en función de las variables: LEI, LEE, ATM, AN, AL, AN/LEE, y PRESIÓN. La realización de un modelo de regresión lineal multivariante (tabla XLIV) de la reestenosis tiene como objetivo observar la influencia que sobre este parámetro tienen desde el punto de vista cuantitativo el resto de variables importantes del estudio. Además, la determinación de un modelo lineal permite conocer la tendencia de cada variable con respecto a la reestenosis, es decir, si al aumentar dicha variable la reestenosis aumenta o disminuye así como el grado de importancia que dicha variable tiene en su aparición.

Tabla XLIV. Modelo de regresión lineal de la variable reestenosis calculado en función del resto de las variables significativas.

The regression equation is				
REESTENOSIS = 5,57 + 19,5 LEI - 19,1 LEE + 22,1 ATM + 0,70 AN - 1,72 AL				
+ 96,1 AN/LEE + 0,0580 PRESION				
Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	5,572	4,099	1,36	0,182
LEI	19,48	44,33	0,44	0,663
LEE	-19,08	44,74	-0,43	0,672
ATM	22,08	44,83	0,49	0,625
AN	0,695	1,496	0,46	0,645
AL	-1,720	2,074	-0,83	0,412
AN/LEE	96,06	17,08	5,62	0,000
PRESION	0,05798	0,09631	0,60	0,551
S = 1,34584 R-Sq = 99,0% R-Sq(adj) = 98,8%				

En la tabla XLIV se presenta el modelo de regresión lineal de la variable reestenosis calculado en función de las variables LEI, LEE, ATM, AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN. El valor del R² ajustado es del 98,9%. A la

vista de los valores de los coeficientes p de las distintas variables, se puede afirmar que algunas de ellas no resultan significativas para la realización del modelo. Con el fin de conseguir un modelo lineal multivariante que no sólo tuviera un valor alto del coeficiente R^2 ajustado sino que además estuviera formado por el menor número necesario de variables se procedió de manera sucesiva a la realización de modelos lineales multivariantes en los que se iban eliminando las variables con el valor más elevado del coeficiente p . El resultado de este proceso iterativo se muestra en la tabla XLV. A la vista de los resultados el modelo óptimo es el formado por las variables ATM, AL y AN/LEE con un R^2 ajustado del 98,90%, el mismo valor que el modelo inicial de siete variables. La tabla XLVI muestra el modelo de regresión lineal de la variable reestenosis en función de ATM, AL y AN/LEE. En la figura 50 se muestran los gráficos del modelo lineal multivariante. Los residuos (diferencia entre el valor de la variable REESTENOSIS y el que predice el modelo) del modelo obtenido se ajustan a una distribución normal pues se ajustan prácticamente a la línea recta. Finalmente, la figura 51 muestra los valores obtenidos por el modelo lineal multivariante frente a los verdaderos valores de reestenosis en cada una de las arterias.

Tabla XLV. Resultados del proceso iterativo de eliminación de variables.

Variables del modelo	Variable eliminada	R^2 ajustado
LEI, LEE, ATM, AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN	-	98,90%
LEI, ATM, AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN	LEE	98,90%
ATM, AN, AL, AN/LEE y PRESIÓN	LEI	98,90%
ATM, AN, AL y AN/LEE	PRESIÓN	98,90%
ATM, AL y AN/LEE	AN	98,90%
ATM y AL		63,20%
ATM y AN/LEE		98,00%
AL y AN/LEE		96,50%

Tabla XLVI. Modelo de regresión lineal de la variable reestenosis calculado en función del resto de las variables significativas.

The regression equation is
 $REESTENOSIS = 3,21 - 1,02 AL + 111 anlee + 3,21 ATM$

Predictor	Coef	SE Coef	T	P
Constant	3,214	1,601	2,01	0,051
AL	-1,0237	0,1690	-6,06	0,000
anlee	111,171	2,925	38,01	0,000
ATM	3,2109	0,3232	9,93	0,000

$S = 1,30861$ $R-Sq = 99,0\%$ $R-Sq(adj) = 98,9\%$

Analysis of Variance

Source	DF	SS	MS	F	P
Regression	3	7165,8	2388,6	1394,84	0,000
Residual Error	43	73,6	1,7		
Total	46	7239,4			

Source	DF	Seq SS
AL	1	3846,1
anlee	1	3150,7
ATM	1	169,0

Figura 50: gráficos del modelo lineal multivariante (ATM, AL y AN/LEE) de la variable REESTENOSIS.

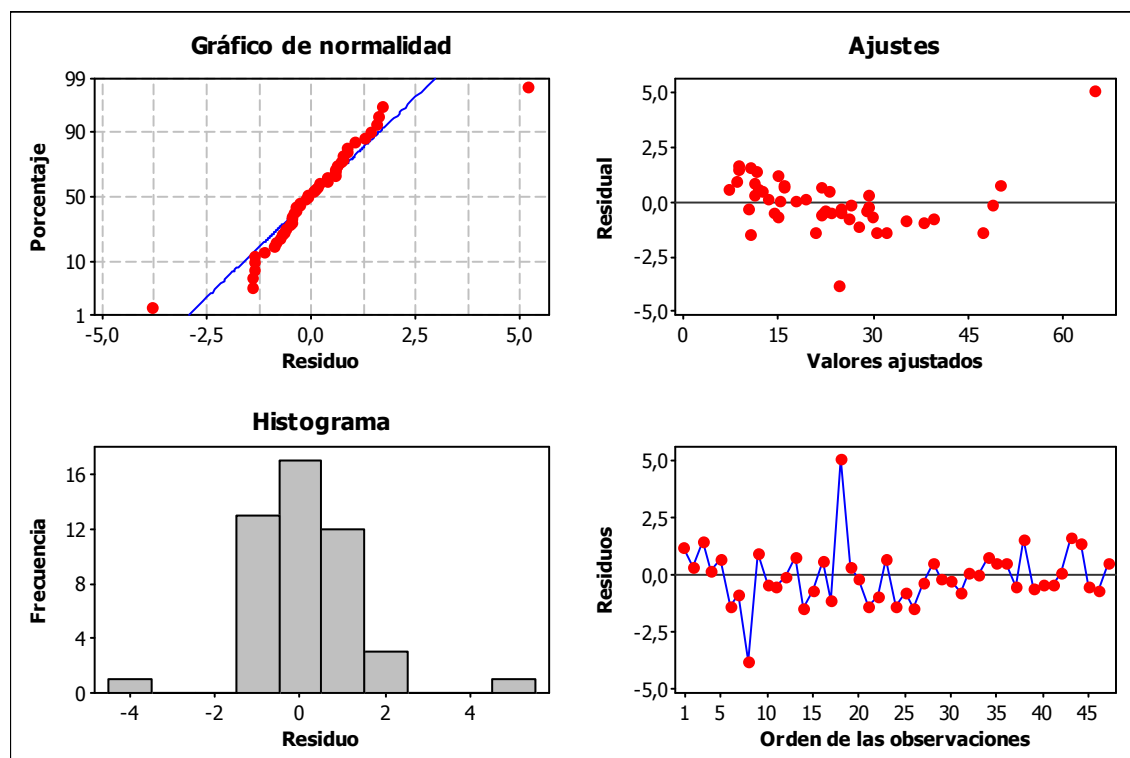
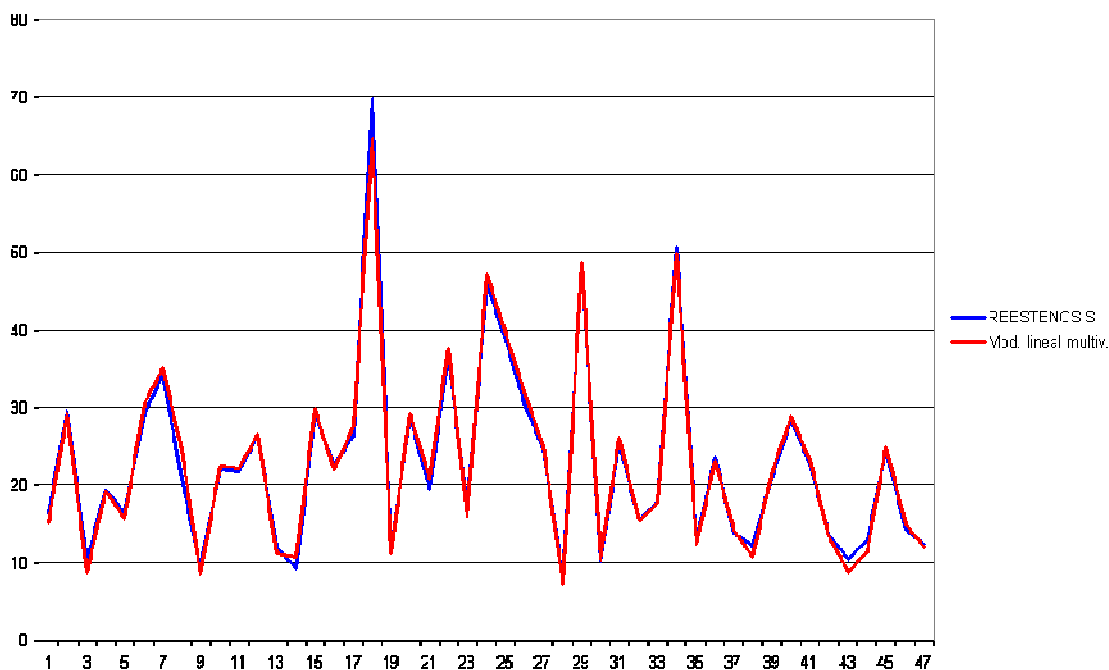


Figura 51: Valores obtenidos por el modelo lineal multivariantes frente a los verdaderos valores de reestenosis en cada una de las arterias.



INFLUENCIA DE LA PRESENCIA DE PACLITAXEL EN EL STENT SOBRE LA VARIABLE REESTENOSIS.

En el presente apartado se analiza cómo la presencia de paclitaxel influye sobre la variable REESTENOSIS. La tabla XLVII muestra los coeficientes de correlación de las variables que se incluyen en el modelo lineal multivariante de la REESTENOSIS diferenciando por una parte los stents sin paclitaxel y por otra con paclitaxel. De los resultados obtenidos se observa que las correlaciones que existen entre la variable REESTENOSIS y las variables AL y ATM son superiores en los stents sin paclitaxel, mientras que el coeficiente de correlación de la variable REESTENOSIS frente a AN/LEE es superior en los stents con paclitaxel pero sólo en 0,028.

Tabla XLVII: Coeficientes de correlación de las variables ATM, AL, AN/LEE y REESTENOSIS para los stents con y sin paclitaxel. Entre paréntesis se muestra el p-value del coeficiente.

Stents con paclitaxel			
	ATM	AL	AN/LEE
AL	0,232 (0,210)		
AN/LEE	0,333 (0,067)	0,220 (0,234)	
REESTENOSIS	0,407 (0,023)	-0,268 (0,145)	0,992 (0,000)

Stents sin paclitaxel			
	ATM	AL	AN/LEE
AL	-0,484 (0,058)		
AN/LEE	0,428 (0,098)	-0,863 (0,000)	
REESTENOSIS	0,644 (0,007)	-0,889 (0,000)	0,964 (0,000)

Las figuras 52, 53 y 54 muestran los scatterplots de la variable REESTENOSIS frente a las variables AL, ATM y AN/LEE respectivamente. De la observación de las tres figuras se desprende que en general, e independientemente del valor de la otra variable considerada, la reestenosis es superior en los stents sin paclitaxel que en aquellos que llevan esta droga. La misma conclusión se desprende de la observación del gráfico tridimensional de la figura 55.

Figura 52: Scatterplot de la variable REESTENOSIS frente a la variable AL.

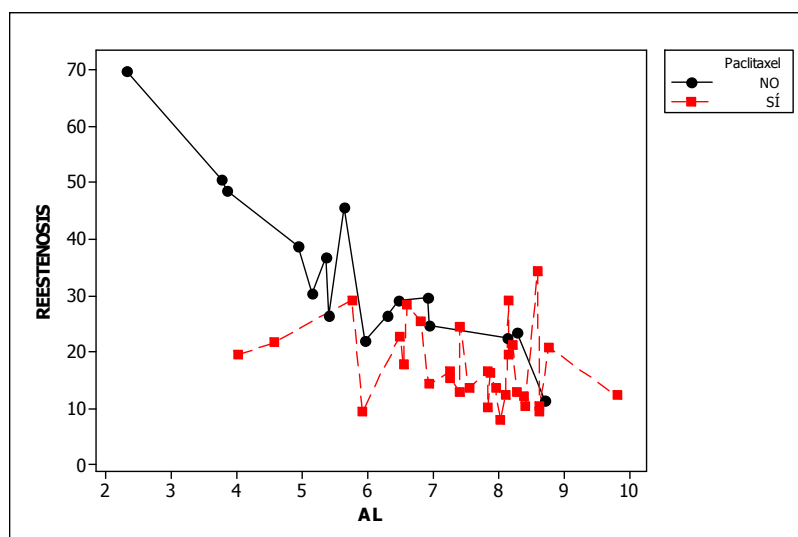


Figura 53: Scatterplot de la variable REESTENOSIS frente a la variable ATM.

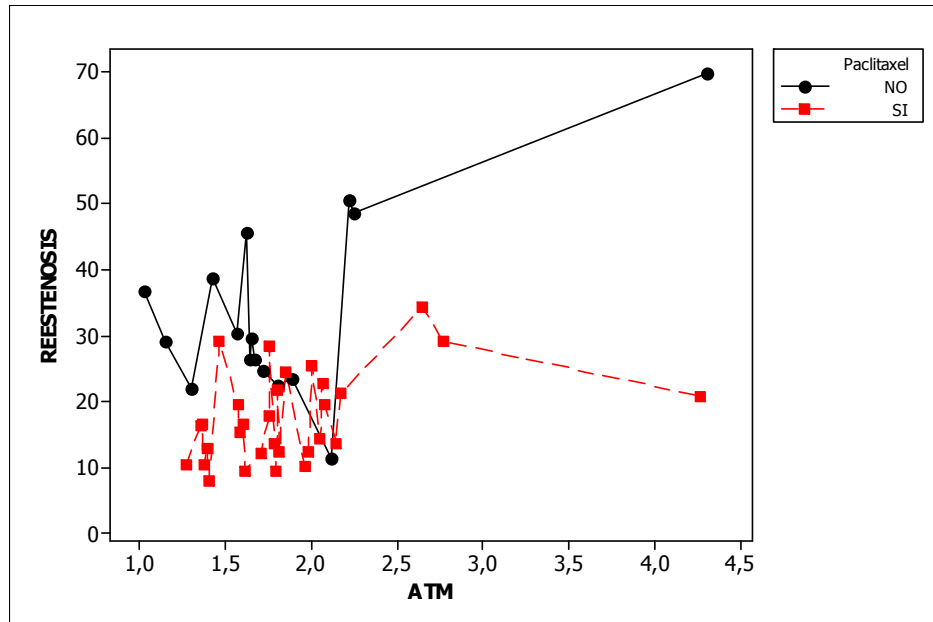


Figura 54: Scatterplot de la variable REESTENOSIS frente a la variable AN/LEE.

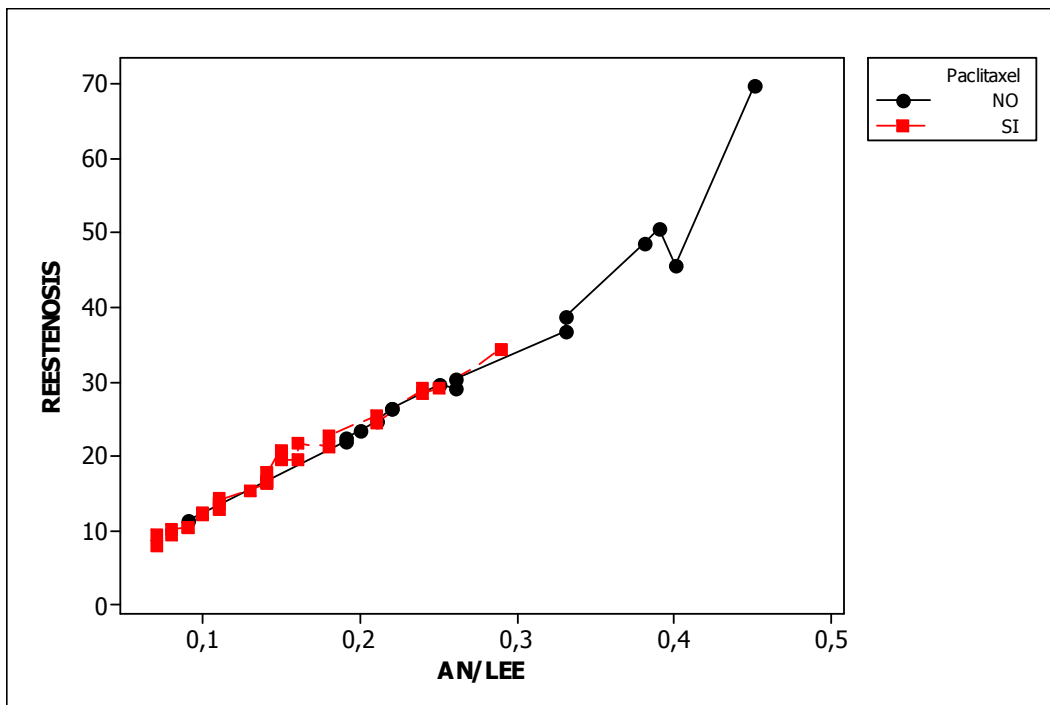
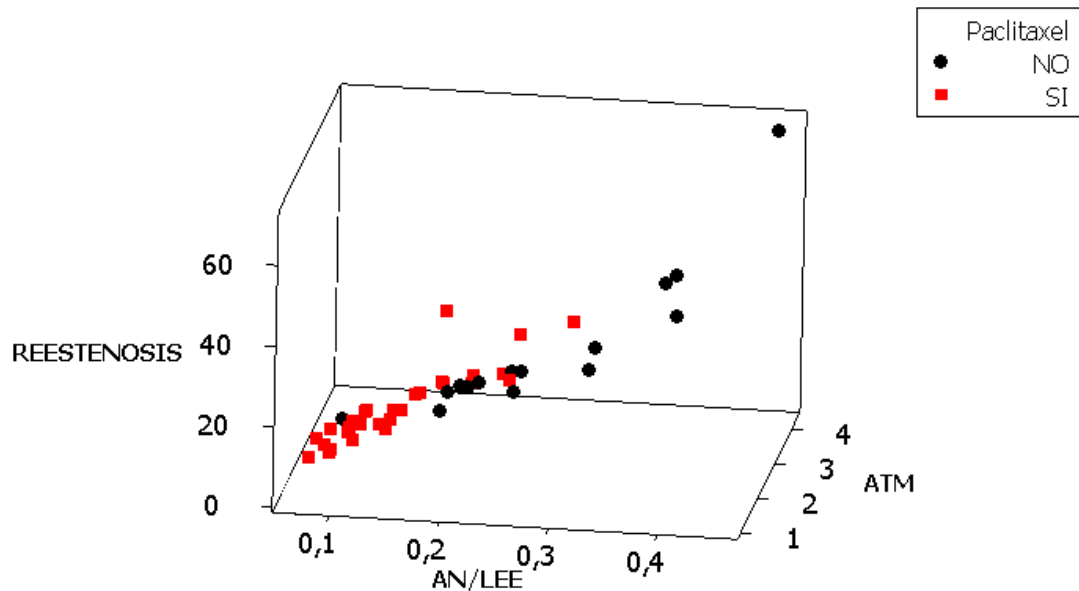
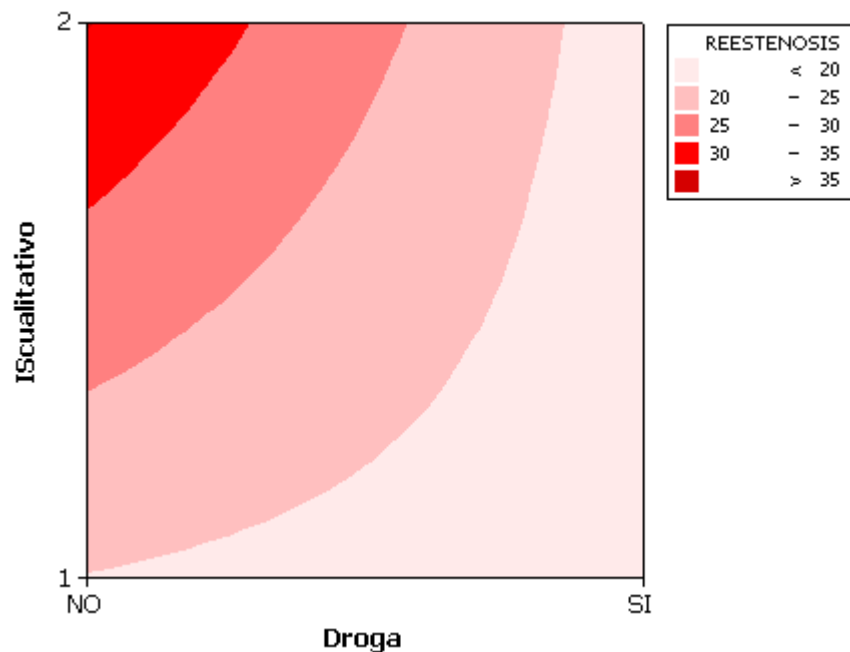


Figura 55: Gráfico 3D de la variable REESTENOSIS frente a las variables ATM y AN/LEE para los stents con y sin paclitaxel.



Finalmente, en la figura 56 se representa el gráfico de contorno de las variables IS Cualitativo y Droga frente a la variable reestenosis. En dicha figura se observa claramente cómo los valores más altos de reestenosis pertenecen a los stents sin droga y con IS cualitativo igual a dos. Nótese que si bien para stents sin droga el valor de la reestenosis puede tener cualquier valor dentro del rango, los stents con droga sólo presentan los valores más bajos de reestenosis.

Figura 56: Gráfico de contorno de las variables IS Cualitativo y Droga frente a la variable reestenosis.



MODELO MARS PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRADO DE REESTENOSIS EN FUNCIÓN DE LOS FACTORES DE MAYOR INFLUENCIA.

Efectuamos un modelo MARS de la variable REESTENOSIS en función de: LEE, LEI, AL, ATM, AN, AN/LEE, PRESIÓN, Stenttipo, IScualitativo y ARTERIA. Nótese que en el modelo MARS no sólo se incluyen variables continuas sino variables discretas dado que este tipo de modelos son capaces de procesarlas de forma adecuada.

Al igual que en lo relativo al modelo de regresión lineal multivariante de la reestenosis realizado con anterioridad, el objetivo de este modelo MARS es observar la influencia que sobre la reestenosis tienen desde el punto de vista cuantitativo el resto de variables significativas. De forma análoga a lo ya dicho para el modelo lineal, el cálculo de un modelo

MARS permite conocer la tendencia de cada variable con respecto a la reestenosis así como el grado de importancia que ésta tiene en su aparición. Tras la etapa inicial de descarte de variables, el modelo MARS resultante sólo encontró como significativas las variables: AN/LEE, LEI combinada con AN/LEE, AN combinada con AN/LEE, ATM combinada con AN/LEE así como AN/LEE combinada con el IS Cualitativo. El hablar de combinación de variables hace referencia a que las variables combinadas aparecen en factores que se multiplican entre sí.

La figura 57 representa la sensibilidad de la variable reestenosis ante variaciones en las combinaciones de las variables de entrada, mientras que en la figura 58 se encuentra información gráfica sobre el modelo (distribución acumulada, ajuste de los residuos, etc.). La ecuación del modelo obtenido se recoge en la tabla XLIX junto con información relativa a las variables utilizadas así como la bondad del ajuste del modelo. Nótese que en la ecuación la función $K \cdot \max(a;b)$ lo que hace es elegir el valor mayor de a y b multiplicarlo por el término K .

A la vista de los resultados obtenidos en las tablas XLVI y XLVIII cabe destacar que si bien el modelo lineal multivariante presentaba un coeficiente de correlación muy elevado ($R^2 = 0,989$), el que se obtuvo con el modelo MARS fue incluso superior ($R^2 = 0,997$) y además en vez de emplear cinco variables diferentes tal y como hace el mencionado modelo lineal multivariante, necesita sólo de cuatro variables, prescindiendo de la variable AL que sí se empleaba en el modelo lineal multivariante.

Figura 57: Sensibilidad de la variable reestenosis ante variaciones en las combinaciones de las variables de entrada.

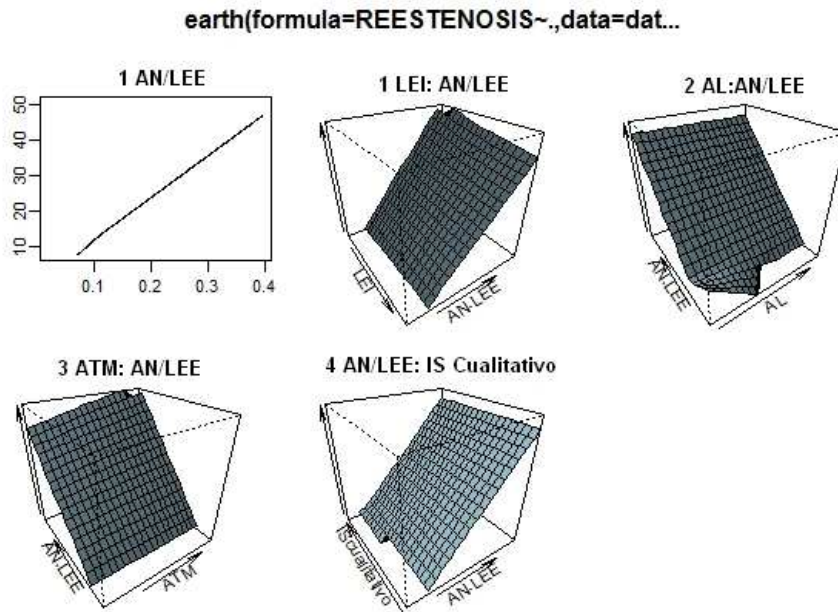


Figura 58: Gráficos de selección de modelo, distribución acumulada, ajuste de los residuos y de normalidad Q-Q.

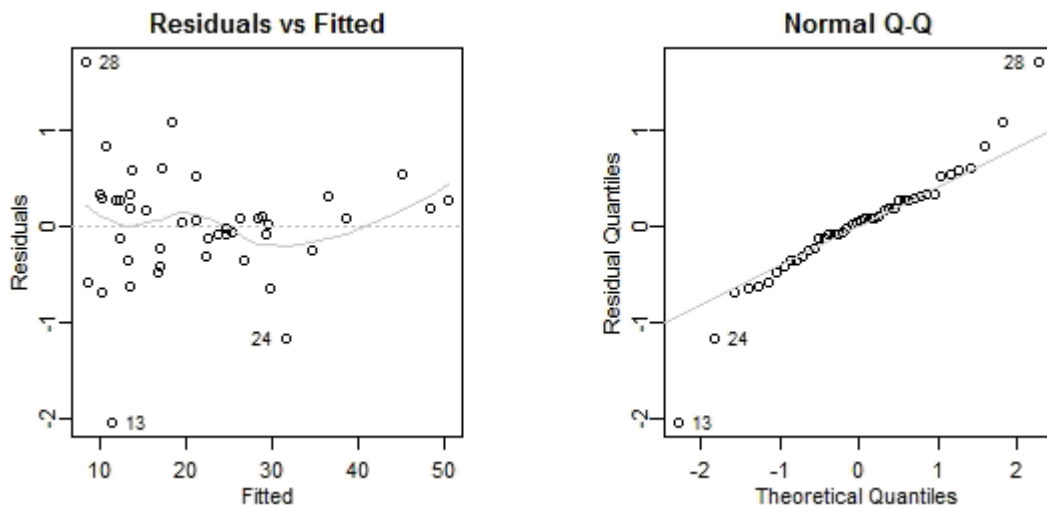


Tabla XLVIII: Ecuación del modelo MARS de la variable reestenosis.

$$\text{REESTENOSIS} = 13,3496 + 121,5291 * \text{máx}(0; \text{AN/LEE} - 0,1109155) - 172,8309 * \text{máx}(0; 0,1109155 - \text{AN/LEE}) - 2,895656 * \text{máx}(0; \text{LEI} - 8,57) * \text{máx}(0; \text{AN/LEE} - 0,1109155) + 4,71218 * \text{máx}(0; 8,57 - \text{LEI}) * \text{máx}(0; \text{AN/LEE} - 0,1109155) + 14,01392 * \text{máx}(0; \text{AL} - 7,84) * \text{máx}(0; 0,1109155 - \text{AN/LEE}) + 62,31987 * \text{máx}(0; 7,84 - \text{AL}) * \text{máx}(0; 0,1109155 - \text{AN/LEE}) + 15,97344 * \text{máx}(0; \text{ATM} - 1,85) * \text{máx}(0; \text{AN/LEE} - 0,1109155) - 18,95673 * \text{máx}(0; 1,85 - \text{ATM}) * \text{máx}(0; \text{AN/LEE} - 0,1109155) + 55,65158 * \text{máx}(0; 0,1109155 - \text{AN/LEE}) * \text{máx}(0; \text{IScualitativo} - 1)$$

Selected 10 of 10 terms, and 5 of 9 predictors

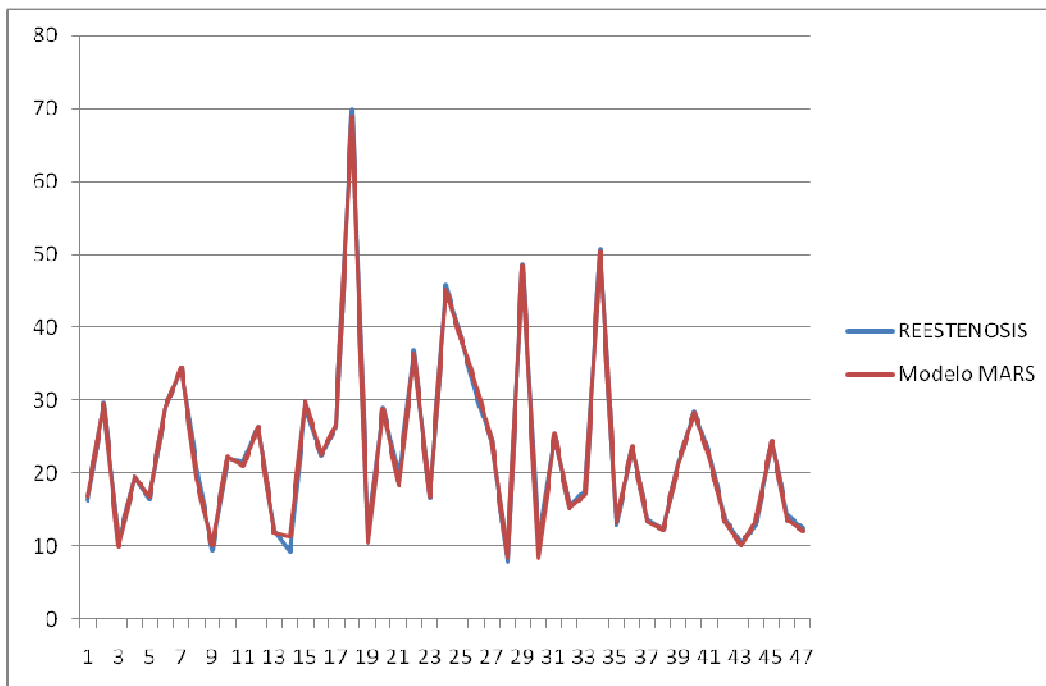
Importance: AN/LEE, AL, ATM, LEI, IScualitativo, AN-unused, Stenttipo-unused, PRESION-unused, ARTERIA-unused

Number of terms at each degree of interaction: 1 2 7

GCV 1.554770 RSS 14.84982 GRSq 0.9869036 RSq 99,70%

Con el fin de poder observar de manera gráfica el ajuste que consigue el modelo MARS de los valores de reestenosis se adjunta la representación gráfica de la figura 59 en la que junto con el valor real de reestenosis en cada stent figura el valor predicho por el modelo. Como se puede observar el modelo realizado reproduce fielmente los valores reales de la reestenosis.

Figura 59. Valores obtenidos por el modelo MARS que estima la reestenosis frente a los verdaderos valores de reestenosis en cada una de las arterias.



Por último, y con el fin de permitir al lector una comparación exhaustiva de los resultados, en la tabla XLIX se presenta el valor de las variables de entrada seleccionadas de cada uno de los casos junto con el valor de la variable de salida (REESTENOSIS) así como la predicción de REESTENOSIS efectuada por el modelo MARS. Nótese que para algunos de los casos no se disponía del valor del IS cualitativo y en la fórmula se consideró que dicho valor era cero. Es decir, que ese término no influía a la hora de realizar el cálculo de la reestenosis (véase al respecto la fórmula de la tabla XLVIII). Por tanto, en caso de haber dispuesto de los valores de IS faltantes, los resultados habrían sido incluso superiores.

Tabla XLIX: Valor de las variables de entrada seleccionadas de cada uno de los casos junto con el valor de la variable de salida (REESTENOSIS) así como la predicción de REESTENOSIS efectuada por el modelo MARS. Nota: en aquellos en los que no se disponía de IS (valor *) se ha considerado en la fórmula un valor de 0.

LEI	AL	ATM	IScualitativo	AN/LEE	REESTENOSIS (%)	Modelo MARS (%)
9,41	7,87	1,35	1	0,14	16,30	16,78
9,82	6,91	1,65	2	0,25	29,57	29,55
9,61	8,62	1,37	1	0,09	10,31	9,98
10,14	8,16	2,07	1	0,16	19,47	19,43
8,68	7,25	1,36	1	0,14	16,46	16,88
11,51	8,15	2,77	1	0,23	29,06	29,14
13,12	8,60	2,64	1	0,29	34,27	34,53
11,07	8,76	4,26	*	0,15	20,79	19,41
9,52	8,62	1,61	2	0,08	9,46	10,16
7,65	5,96	1,30	1	0,19	22,00	22,32
5,76	4,57	1,80	2	0,02	21,64	21,12
8,57	6,31	1,64	2	0,22	26,38	26,31
9,54	8,39	1,70	1	0,10	12,05	11,78
6,52	5,92	1,79	1	0,07	9,25	11,29
8,21	5,76	1,46	2	0,25	29,17	29,82
10,49	8,14	1,80	1	0,19	22,45	22,59
7,40	5,40	1,67	2	0,22	26,38	26,73
7,70	2,32	4,30	*	0,45	69,80	68,88
9,83	8,70	2,11	1	0,09	11,43	10,60
9,13	6,48	1,15	2	0,26	29,00	28,91
5,02	4,03	1,57	2	0,15	19,42	18,34
8,53	5,37	1,02	2	0,33	36,75	36,44
9,40	7,84	1,60	2	0,14	16,63	16,87
10,41	5,65	1,62	2	0,40	45,74	45,20
8,04	4,93	1,42	2	0,33	38,66	38,59
7,52	5,14	1,56	2	0,26	30,44	31,61
9,22	6,94	1,71	2	0,21	24,65	24,67
8,71	8,02	1,40	2	0,07	7,86	8,46
7,51	3,85	2,24	2	0,38	48,58	48,41
8,73	7,84	1,96	1	0,08	10,10	8,39
9,14	6,80	2,00	2	0,21	25,30	25,36
8,56	7,26	1,58	2	0,13	15,40	15,25
7,92	6,55	1,75	1	0,14	17,72	17,12
7,60	3,76	2,22	2	0,39	50,67	50,41
8,50	7,40	1,39	1	0,11	12,87	13,23
10,82	8,28	1,88	1	0,20	23,54	23,64
9,22	7,95	2,14	1	0,11	13,68	13,35
11,18	9,81	1,98	1	0,10	12,21	12,35
10,42	8,21	2,17	1	0,18	21,24	21,19
9,21	6,60	1,75	1	0,24	28,39	28,31
8,39	6,49	2,06	*	0,18	22,76	22,24
8,72	7,55	1,78	1	0,11	13,57	13,40
9,38	8,40	1,27	1	0,09	10,37	10,08
9,49	8,27	1,39	2	0,11	12,85	13,48
9,81	7,41	1,85	1	0,21	24,44	24,52
8,10	6,94	2,05	1	0,11	14,23	13,65
9,26	8,11	1,81	1	0,10	12,40	12,15

MODELO MARS PARA LA DETERMINACIÓN DEL VALOR DE LA VARIABLE AN EN FUNCIÓN DE IS, ATM, LEE Y LEI.

El modelo del presente apartado modeliza el área de neóntima a partir de las variables IS, ATM, LEE y LEI. El grado de importancia de cada una de las variables en el modelo se recoge en la figura 60, tal y como se puede ver en dicha figura, la variable de mayor importancia es LEI, seguida de IS, ATM y finalmente LEE. En la figura 61 representa la sensibilidad de la variable AN frente a variaciones en las combinaciones de las variables de entrada. El valor R^2 del modelo MARS calculado es del 82% (tabla L) por lo que resulta posible la determinación del área de neóntima a partir de las cuatro variables seleccionadas, siendo la mayor contribución al valor de la variable AN la que aportan los términos de la ecuación que tienen las variables LEI y LEE así como LEI e IS. En la figura 62 se presentan los gráficos de ajuste de los residuos.

Figura 60. Análisis de importancia de las variables del modelo.

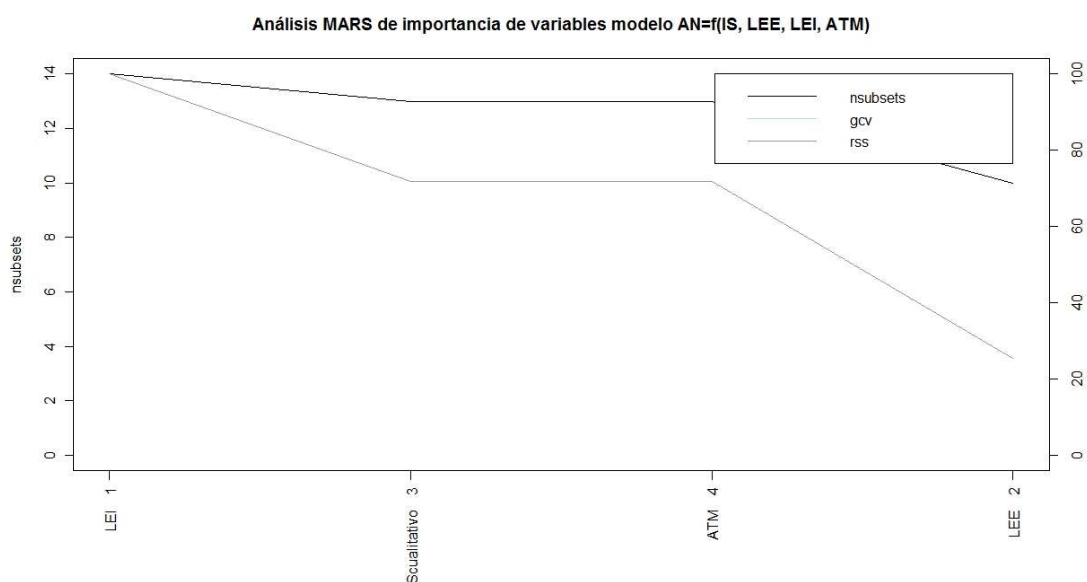


Figura 61. Sensibilidad de la variable AN ante variaciones en las combinaciones de las variables de entrada.

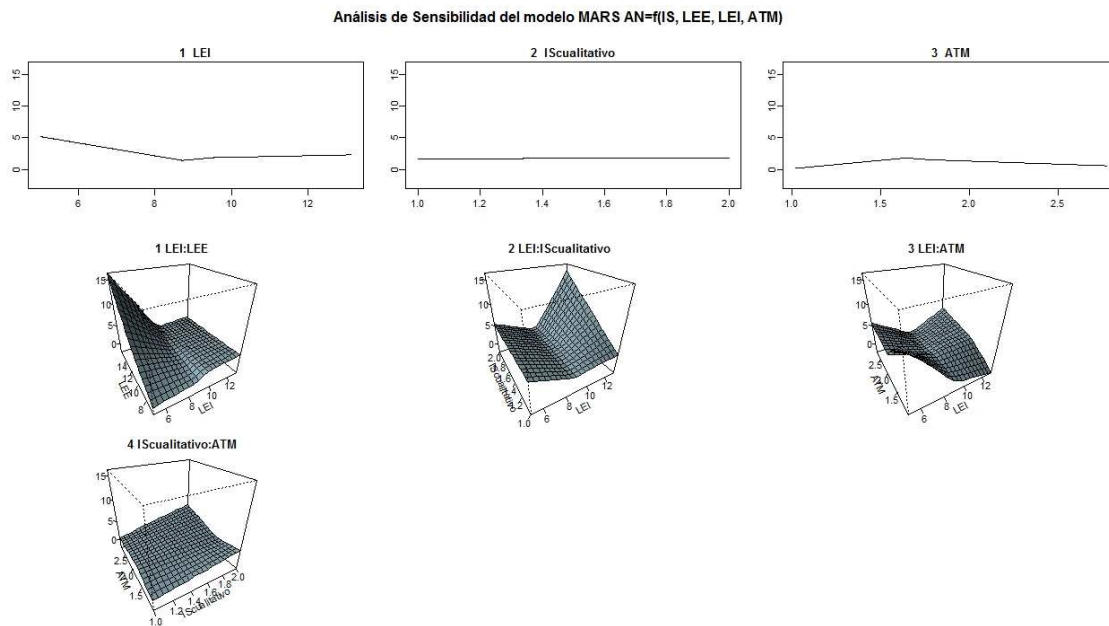


Tabla L: Ecuación del modelo MARS de la variable AN.

$$AN=0,7+1,6*\text{máx}(0;LEI-8,7)-2,1*\text{máx}(0;LEI-9,5)+0,77*\text{máx}(0;9,5-LEI)-0,25*\text{máx}(0; IScualitativo -1)- 1,1*\text{máx}(0;ATM-1,6)-3,5*\text{máx}(0;1,6-ATM)+0,49*\text{máx}(0;9,5-LEI)*\text{máx}(0;LEE-11)-0,31*\text{máx}(0;9,5-LEI)*\text{máx}(0;11-LEE)+3,4*\text{máx}(0;LEI-9,5)*\text{máx}(0;IScualitativo-1)+0,55*\text{máx}(0;9,5-LEI)*\text{máx}(0;ATM-1,8)+2,7*\text{máx}(0;9,5-LEI)*\text{máx}(0;1,8-ATM)+1,0*\text{máx}(0;LEI-9,5)*\text{máx}(0;ATM-1,0)+3,8*\text{máx}(0; IScualitativo-1)*\text{máx}(0;ATM-1,6)+ 4,3*\text{máx}(0; IScualitativo-1)*\text{máx}(0;1,6-ATM)$$

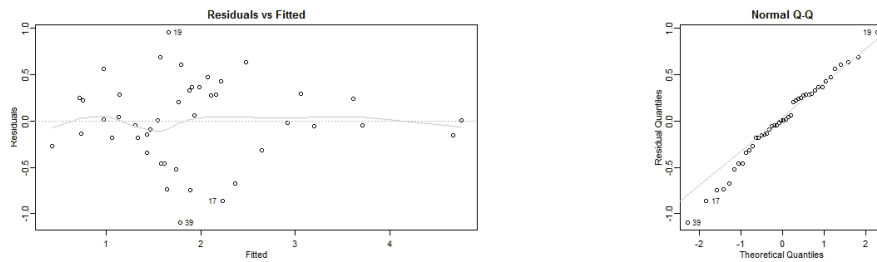
Selected 15 of 15 terms, and 4 of 4 predictors

Importance: LEI, IScualitativo, ATM, LEE

Number of terms at each degree of interaction: 1 6 8

GCV 5.8 RSS 8.4 GRSq -4.1 RSq 82,00%

Figura 62. Gráficos de selección de modelo, distribución acumulada, ajuste de los residuos y de normalidad Q-Q.



MODELO MARS PARA LA DETERMINACIÓN DEL VALOR DE LA VARIABLE AN EN FUNCIÓN DE LAS VARIABLES ANTERIORES (IS, ATM, LEE Y LEI) JUNTO CON LA VARIABLE PRESENCIA DE PACLITAXEL.

El modelo del presente apartado representa el área de neoíntima teniendo en cuenta las variables empleadas en el modelo del apartado anterior junto con la variable presencia de paclitaxel (droga). El objetivo de la realización de este modelo es doble: por una parte, se pretende mejorar el valor de R^2 que se obtuvo con el modelo anterior mientras que por otra se añade la variable que indica si existe presencia de droga o no pues tal y como se comprobó en los estudios realizados con anterioridad las correlaciones existentes entre variables se ven alteradas por la presencia de paclitaxel (véase al respecto el apartado en el que se estudia la influencia de la presencia de paclitaxel en el stent sobre la variable reestenosis). La figura 63 muestra el análisis de importancia de las variables consideradas mientras que en la tabla LI se presenta la ecuación del modelo obtenido. Cabe destacar que el valor de R^2 obtenido mejora el 82% del modelo anterior llegando hasta un 88%. Nótese también que la variable LEI no forma parte del modelo resultante pues fue descartada por el algoritmo. Es

decir, con el mismo número de variables el valor de R^2 es superior al del modelo anterior.

Figura 63. Análisis de importancia de las variables del modelo.

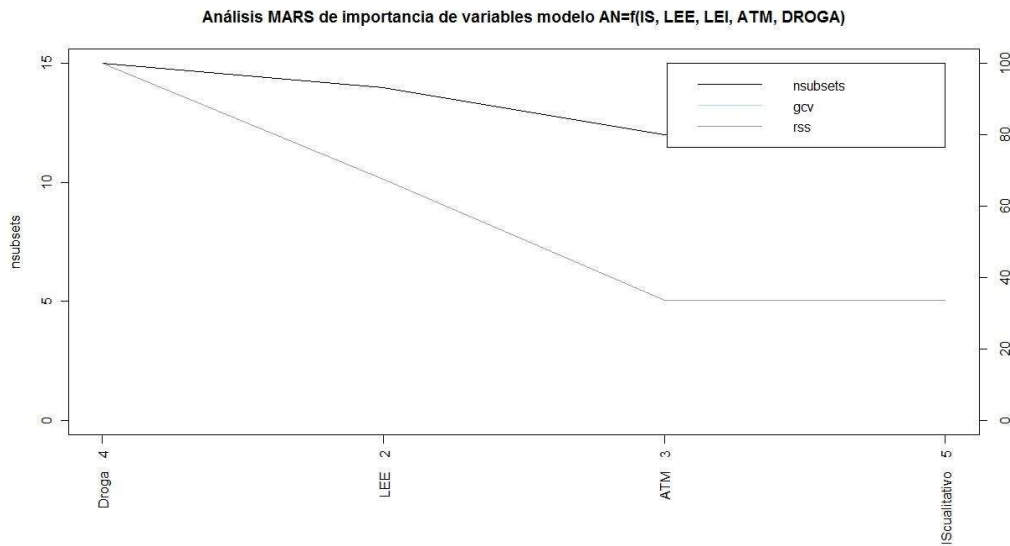


Figura 64. Sensibilidad de la variable AN ante variaciones en las combinaciones de las variables de entrada.

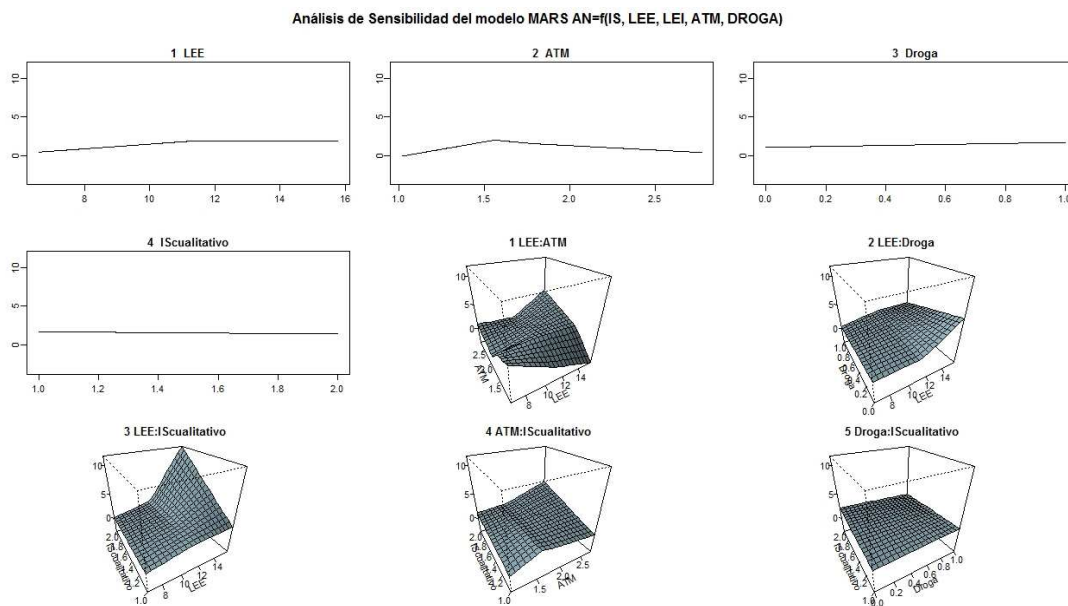


Tabla LI: Ecuación del modelo MARS de la variable AN en función de LEI, LEE, ATM, Droga e IS cualitativo.

$$AN = 1,3 + 0,33 * \text{máx}(0; LEE - 1) - 0,16 * \text{máx}(0; 11 - LEE) - 1,4 * \text{máx}(0; ATM - 1,6) - 4,6 * \text{máx}(0; 1,6 - ATM) + 0,76 * \text{máx}(0; Droga - 0) + 0,76 * \text{máx}(0; IScualitativo - 1) + 0,59 * \text{máx}(0; 11 - LEE) * \text{máx}(0; ATM - 1,8) + 1,8 * \text{máx}(0; 11 - LEE) * \text{máx}(0; 1,8 - ATM) + 0,9 * \text{máx}(0; LEE - 11) * \text{máx}(0; ATM - 1,0) - 0,92 * \text{máx}(0; LEE - 11) * \text{máx}(0; Droga - 0) - 0,28 * \text{máx}(0; 11 - LEE) * \text{máx}(0; Droga - 0) + 2,2 * \text{máx}(0; LEE - 11) * \text{máx}(0; IScualitativo - 1) + 4 * \text{máx}(0; ATM - 1,6) * \text{máx}(0; IScualitativo - 1) + 3,3 * \text{máx}(0; 1,6 - ATM) * \text{máx}(0; IScualitativo - 1) - 1,5 * \text{máx}(0; Droga - 0) * \text{máx}(0; IScualitativo - 1)$$

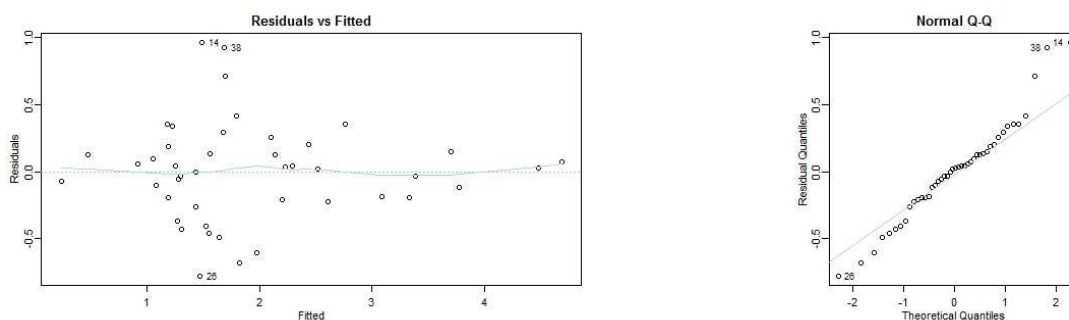
Selected 16 of 16 terms, and 4 of 5 predictors

Importance: Droga, LEE, ATM, IScualitativo, LEI-unused

Number of terms at each degree of interaction: 1 6 9

GCV 8.5 RSS 5.8 GRSq -6.5 RSq 88,00%

Figura 65. Gráficos de ajuste de los residuos y normalidad Q-Q.



A partir de la información contenida en la figura 64 y de la ecuación del modelo presente en la tabla LI se puede afirmar que la variable que nos indica la presencia o no de paclitaxel influye sobre la variable AN no solamente con un término lineal sino con términos de segundo orden que afecta también a las variables LEE e IS cualitativo. Con el fin de conocer la interacción de estas variables con los valores de AN, se representan los gráficos de superficie de las figuras 66 y 67. A la vista de dichas figuras se observa claramente que en general la presencia de paclitaxel disminuye el valor de AN para todos los valores de LEE (figura 66) y que también ocurre lo mismo tanto para los stents con IS 1 como los de IS 2 (figura 67).

Figura 66. Gráfico de superficie de las variables AN, LEE y Droga.

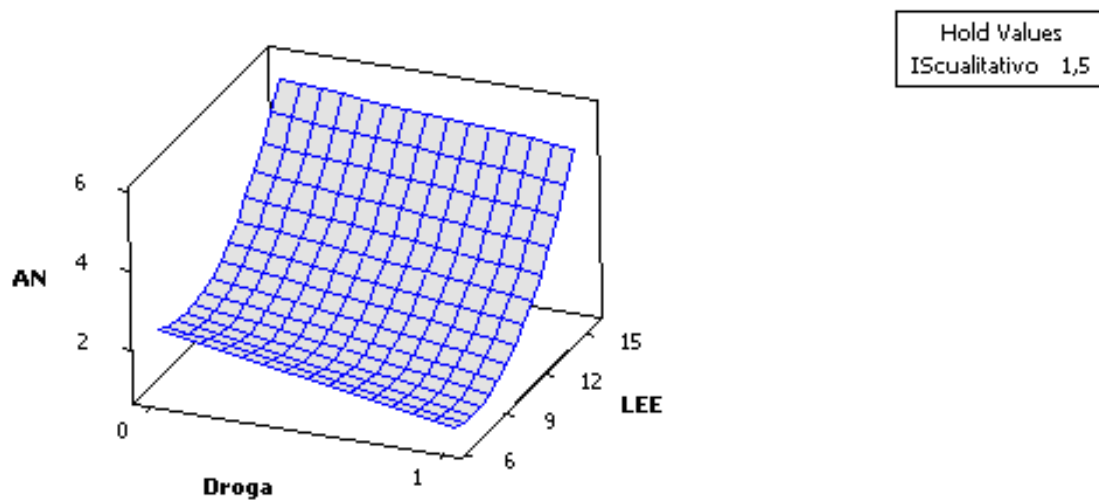
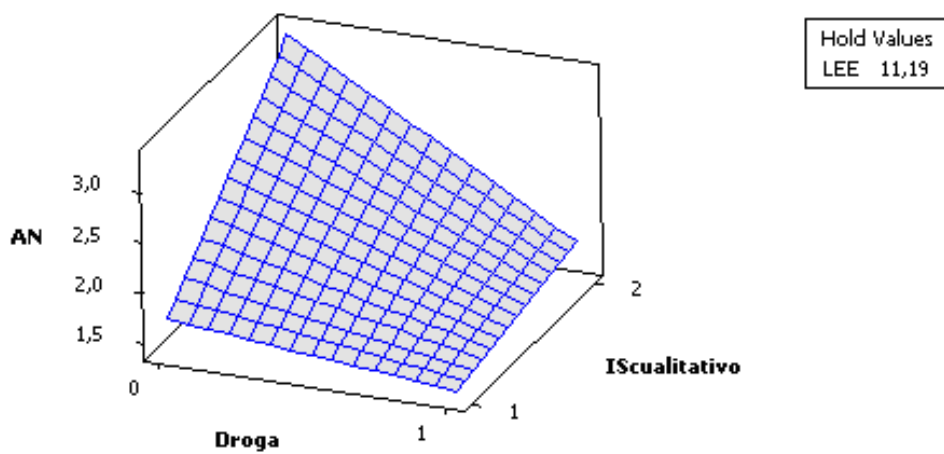


Figura 67. Gráfico de superficie de las variables AN, IS Cualitativo y Droga.



DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

6. DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

6.1. *Sobre el modelo animal, stents y procedimiento intervencionista*

En la actualidad no existe un modelo animal ideal de enfermedad cardiovascular humana, aunque el daño vascular y la respuesta proliferativa neointimal en el modelo porcino de arteria coronaria sana o en el modelo de conejo de arteria ilíaca, es similar a lo que ocurre en la reestenosis humana (Schwartz 1992; Kornowski 1998; Gunn 2002). Naturalmente, el daño vascular provocado en las arterias de ambos modelos difiere del provocado en las arterias ateroscleróticas humanas, si bien los estudios experimentales con daño arterial tras la sobreexpansión de un stent sugieren una importante relación entre inflamación, daño vascular y crecimiento neointimal, lo que es similar a lo que ocurre en las arterias coronarias humanas (Schwartz, 2002; Farhan, 2008). Además en los dos modelos animales se logra una endotelización rápida del vaso arterial tras la provocación del daño vascular y son apropiados para valorar en estudios preclínicos la factibilidad, seguridad, eficacia y biocompatibilidad de los SFA (Schwartz, 2008).

Conocidos estos datos y ante la dificultad de provocar y encontrar arterias arterioscleróticas en el cerdo, optamos por utilizar el modelo porcino de arteria coronaria sana porque además los implantes de stents en arterias ilíacas no valoran los fenómenos trombóticos y/o arritmogénicos originados “río abajo” en la circulación coronaria, que se pueden producir a consecuencia del tratamiento o del dispositivo. Así nuestros resultados histológicos e histomorfométricos confirman la validez y fiabilidad del modelo animal utilizado, demostrando que la respuesta proliferativa

observada es proporcional al daño vascular provocado por la sobreexpansión del stent.

En concordancia con otros autores (Kornowski, 1998; Scheller, 2005; Bhargava, 2006; Nakazawa, 2007; Berg, 2007) empleamos stents premontados sobre un catéter-balón y expandidos hasta conseguir una relación balón/arteria de 1.2:1 a 1.3:1, siendo todos los stents utilizados de 3,5 mm de diámetro y 18 mm de longitud. La elección de stents premontados, al igual que en la práctica humana, facilita la técnica intervencionista y disminuye las complicaciones. Por otra parte, en nuestro modelo porcino de daño vascular tras la sobreexpansión de un stent, la utilización de stents de 3.5 mm de diámetro y una relación balón/arteria de 1.2:1 a 1.3:1 nos permitió conseguir con un incremento del diámetro del vaso coronario mayor del 50%, un daño vascular suficiente y uniforme. Wilson (2007), en su estudio con el stent TAXUS[®], utiliza stents de 3.0-3.5 mm de diámetro y una relación balón/arteria entre 1.1 y 1.2. Scheller (2005), en cerdos domésticos de unos 25 kilos de peso, utiliza stents de 3.0 mm y 16 mm de longitud y Schwartz y cols. (2008), en su documento de recomendaciones de consenso para evaluación preclínica, aconsejan la utilización de las tres arterias epicárdicas y una relación dispositivo/arteria entre 1.0 y 1.2.

Por otro lado, los SFA representan el nuevo “gold estándar” para prevenir la reestenosis. A pesar de los resultados alentadores de los ensayos clínicos (Morice 2002; Moses 2003; Grube 2003; Stone 2004; Colombo 2003), la preocupación por los SFA se ha puesto de manifiesto ya que su efectividad puede ser causa de oclusión trombótica (McFadden 2004; Costa 1999), retraso de la reestenosis o malposición tardía (Kozuma 1999), efecto

borde o inflamación crónica (van der Giessen 1996; Farb 2001; Carter 2002).

Los stent de nuestro ensayo y en especial el stent recubierto P5/T esta basado en la plataforma Apolo®, recubierto con un polímero acrílico que contiene triflusal (antiplaquetario y antitrombótico) y paclitaxel, fármaco de probada actividad antiproliferativa. El recubrimiento está formado por dos capas, la primera por el polímero P5® (2,53 µg/mm² de superficie metálica del stent) mezclada físicamente con paclitaxel (dosis de 0,17 ó 0,32 µg/mm²) y una segunda capa sólo de polímero P5® (1 µg/mm²) que modula la cinética de liberación del fármaco paclitaxel y que en este dispositivo es de aproximadamente el 16% a los 7 días del implante. Como es sabido, el paclitaxel inhibe la depolimerización microtubular y de este modo tiene un potente efecto sobre la división y migración celular (Axel, 1997).

En muchos estudios animales se han reportado resultados alentadores investigando stents recubiertos de paclitaxel; estos estudios han demostrado reducciones dosis-dependiente de la hiperplasia neointimal de hasta el 60% cuando se comparan con controles de stent desnudo en modelos de arteria ilíaca de conejo y arteria coronaria porcina y certeramente pronosticaron su gran éxito en la clínica humana (Drachman, 2000; Heldman, 2001; Hong, 2001; Farb, 2001; Suzuki, 2001; Kolodgie, 2002); sin embargo ya Farb y cols (2001), en el modelo de conejo, comunicaron una tendencia a la cicatrización incompleta y hemorragia intraluminal en los grupos con altas dosis de paclitaxel.

A pesar de estos posibles inconvenientes y durante el procedimiento intervencionista, respecto al despliegue, manipulación y

visualización del posicionamiento del stents, fue correcto en todos los casos y no hubo ningún problema ni en el desinflado del balón ni en la retirada del sistema de liberación. Se registró un único episodio de fibrilación ventricular tras la implantación de un stent en una arteria coronaria derecha que se resolvió tras una descarga eléctrica de 200 julios. Estos datos confirman la alta tasa de éxito primario del procedimiento y la seguridad del dispositivo.

Asimismo, la mortalidad en nuestro estudio fue del 10%, que es una mortalidad normal para este tipo de ensayos animales, y que en cualquier caso fue una mortalidad precoz (peri-procedimiento). Fallecieron dos animales a las pocas horas tras el proceso de implante, ambos entre 4 y 6 horas después del procedimiento y como causas probables se consideraron una arritmia ventricular letal y/o trombosis aguda de un stent, pero sin llegarse a establecer la causa. En ambos casos el procedimiento fue muy prolongado, con grandes dificultades técnicas para canalizar de forma selectiva los ostium coronarios. En los 18 animales restantes se completó el seguimiento a cuatro semanas y no hubo ninguna sospecha clínica ni evidencia anatomo-patológica de episodios de trombosis subaguda. La mortalidad del procedimiento en el trabajo de Bhargava (2006) con un stent poroso de cromo-cobalto y paclitaxel fue del 15% y, al igual que en nuestro estudio, fue precoz y en relación con las complicaciones perianestesia, dado que en este modelo no es habitual la pérdida de animales durante los periodos de seguimiento (Scheller, 2005; Speck, 2006; Nakazawa, 2007; Dommke, 2007; Miyauchi, 2008).

6.2. Sobre histomorfometría y daño vascular

Con este modelo de sobreexpansión de stents premontados, *el área media del vaso valorada por la variable LEE (área contenida dentro de la lámina elástica externa) se incrementó más doble en relación con el área media en los segmentos sanos (10,84 frente a 3,99 mm²), lo que corresponde a un incremento medio del calibre del vaso del 65% (2,25 mm frente a 3,71 mm)*. El grado de daño en la pared arterial, consecuencia de esta sobreexpansión, se valoró por una escala morfológica de daño vascular conocida como “injury score”, tomando de referencia *la escala morfológica de Schwartz (1992) modificada* descrita en la metodología.

Nuestros datos mostraron que el 51% de los stents implantados tenían integridad de la lámina elástica interna (LEI), con independencia del grado de compresión de la túnica media y el 43% tenían rotura de la misma, con diversos grados de laceración de la túnica media (ATM), pero con integridad de la LEE; el 6% restante tenían rotura de la LEE y fueron excluidos de nuestro análisis. En base a nuestra experiencia y a estos resultados con el modelo porcino de sobreexpansión de stent, el punto de corte del daño vascular se debería establecer en la integridad o no de la LEI, pues la realidad es que con este modelo de sobreexpansión siempre se muestra mayor o menor grado de compresión y/o laceración de la capa túnica media, independientemente de la integridad de la LEI. Aunque la profundidad del daño vascular (injury score) es el estímulo más potente de la respuesta proliferativa, de tal forma que la rotura de la LEI es un estímulo muy poderoso y más aún la rotura de la LEE que es el estímulo más potente y causa por tanto de la exclusión del estudio de los stent que causaron este daño.

En esta línea nuestros datos de IS están de acuerdo con los estudios de Gunn (2002) que mostraron en modelos porcinos que la compresión de la capa media con integridad de la LEI era incluso más frecuente que daños vasculares más profundos (rotura de la LEI o LEE), y que debería considerarse como el “*estímulo global*” más importante en el daño vascular de grado moderado, y lo que es más trascendente, que el grado de compresión de la capa túnica media tiene una correlación positiva con la intensidad de la respuesta de formación de nueva neoíntima. Relación también observada en nuestro estudio, puesto que *nuestros resultados confirman que la variabilidad de la respuesta proliferativa es proporcional al grado de daño vascular, independientemente del stent utilizado*. Así si el promedio del área de neoíntima para todos los stents fue de 2.04 mm², para aquellos con daño vascular leve (grado 1) fue tan solo de 1,70 mm² y cuando el daño vascular pasaba a moderado (grado 2) con rotura de la LEI el promedio del área de neoíntima se incrementaba hasta los 2,28 mm² lo que suponía un aumento del 34% (véase al respecto la tabla 22).

Asimismo el índice AN/LEE que de alguna manera indica el porcentaje o cantidad del área incluida dentro de la LEE ocupada por el área de la neoíntima, se incrementó considerablemente pasando del 14 al 22% a medida que aumentaba el daño vascular de 1 a 2 según la clasificación modificada de Schwartz. Igual tendencia se manifiesta si la respuesta proliferativa se valora por el área de reestenosis, con promedios de porcentaje del 22,9% para todos los stents, por tan solo del 17,4% en las arterias con daño vascular tipo 1 y del 27,2% en las arterias con daño vascular tipo 2, lo que supone también un incremento del 57%.

La explicación a los posibles mecanismos por los que la compresión de la capa túnica media induce proliferación neointimal es

debida a que el impacto del stent comprime las células musculares lisas alrededor de cada strut, pudiendo llegar a causar atrofia de la media y las células muertas (necrosis o apoptosis) pueden entonces comenzar los procesos biológicos que conducen a la formación de neoíntima; o bien a que la compresión puede ser transmitida célula a célula por moléculas de adhesión e integrinas intracitoplasmáticas, que pueden activar quinasas o metaloproteinasas que conducen a la proliferación neointimal y/o la formación de tejido conectivo (Zou 1998; Yang 1998; Garasic 2000).

En cualquier caso e independientemente de la escala morfológica empleada, el grado de daño vascular demostrado en nuestro estudio es superponible, o incluso superior, al publicado por otros autores. Con metodología superponible en modelos porcinos, Kornowski (1998) publica un IS medio de 1,54, Scheller (2005) un IS medio de 0,8, Berg (2007) de 0,7 y Bhargava de 0,85, todos ellos según la clasificación original de Schwartz. En algo menos de la mitad de nuestras observaciones se documentó rotura de la LEI con diversos grados de compresión/laceración de la capa túnica media, lo que corresponde a los grados 1 y 2 de la clasificación de Schwartz y en aproximadamente la mitad de los casos integridad de la LEI (grado 0 de Schwartz) con diferente grado de compresión/laceración de la capa túnica media.

Por otro lado, hemos de destacar que nuestros datos indican que para el conjunto de stents, *el incremento del daño vascular se tradujo además en una retracción significativa del tamaño del vaso* (remodelado negativo), de tal forma que el área contenida dentro de la LEE en los stents con integridad de la LEI (11,33 mm²) fue significativamente mayor que la de los stents con rotura de la misma (10 mm², p = 0,005) (dicha información se recoge en la tabla XXII); este es un hecho inesperado, pues

es un dogma que el stent impide el remodelado negativo del vaso, aunque ya fue descrito en el año 2002 por Gunn y cols., quienes observaron este mismo efecto en los stents con daño vascular profundo, pero con integridad de la LEE. Estos autores explican que la integridad de la LEE tiene un efecto constrictivo, permitiendo únicamente la expansión de la neoíntima hacia el interior del vaso y con la rotura de la misma se perdería este efecto constrictor, permitiendo la expansión del tejido hacia dentro y hacia fuera.

En esta línea y para dar mayor reproductibilidad y consistencia a los resultados de nuestro estudio, comprobamos a través de un modelo de regresión lineal la correlación y significación entre las diferentes variables histomorfométricas y su proporcionalidad al grado de daño vascular (entre AL, ATM, AN, AN/LEE y RESTENOSIS). Los resultados obtenidos muestran que la correlación entre la REESTENOSIS e índice AN/LEE, permite afirmar que el 96% de la variabilidad de la reestenosis se podría explicar por este índice. Esta correlación también fue observada y esta de acuerdo con los trabajos de Schwartz (1992) y Gunn (2002), cuando señalan que la proliferación de la neoíntima, en el modelo de arteria coronaria porcina, es una respuesta al daño vascular que sigue una relación proporcional al mismo y que su cuantificación permite testar diferentes métodos de prevención de reestenosis en modelos animales.

La variabilidad individual del árbol vascular coronario porcino con arterias de diferente longitud, grosor, curvatura y accesibilidad podría favorecer de alguna manera la ocurrencia del daño vascular y en este sentido los trabajos de Virmani (2003) y Schwartz (2004) señalan la importancia de elegir los segmentos proximales de arterias coronarias epicárdicas. En cualquier caso, la expansión del stent se debe “adaptar” al tamaño y configuración del vaso, con una adecuada aposición

circunferencial del dispositivo a la pared del mismo. De acuerdo a lo expuesto, hemos de decir que nuestros datos no muestran diferencias estadísticas al relacionar la arteria dónde fue implantado el stent y el tipo de daño vascular (IS 1 vs IS 2). No obstante el mayor daño vascular aconteció en la arteria circunfleja y en la arteria descendente anterior, donde el 57% de los stents implantados presentaron daño vascular tipo 2 por tan sólo el 25% de los implantados en la coronaria derecha.

Con estos resultados y teniendo en cuenta que la arteria coronaria derecha es la arteria de mayor calibre, se esperaría una menor respuesta en las variables de proliferación, sin embargo los valores de las variables histomorfométricas para cada una de las tres arterias poststent independientemente del stent colocado mostraron valores diferentes, o ligeramente diferentes, pero nunca fueron significativos, y en todo caso fue el vaso de menor calibre (arteria descendente anterior), el vaso que obtuvo menor área de neoformación (AN) y la arteria circunfleja, la arteria que obtuvo la mayor tasa de reestenosis a pesar de presentar menor daño en la mayoría de los stents. Esta aparente contradicción, se explica porque aún aceptando las mismas condiciones de experimentación (calibre y longitud del stent y presión de expansión), *el calibre y la curvatura del vaso juegan un papel preponderante en el grado de daño vascular*, pues a menor calibre se ejerce mayor fuerza de expansión y consecuentemente mayor daño, y a mayor arco de curvatura del vaso peor aposición de los extremos del stent y mayor variabilidad en el reparto de la fuerza de expansión. En la bibliografía consultada con este modelo porcino, no se hace referencia clara a estos aspectos y existe gran variabilidad tanto en el número de arterias empleadas por animal (en los últimos años es más frecuente utilizar las tres arterias) como en el calibre de las endoprótesis implantadas; en general se hace únicamente referencia al segmento arterial dónde fue implantado

(frecuentemente segmento proximal) y la relación balón/arteria. Es por ello, que para este tipo de modelo experimental, si se emplean las tres arterias, los stents se deben colocar en segmentos rectilíneos que permitan una buena aposición del mismo y adecuar el tamaño del stent al calibre de cada vaso en la relación deseada (entre 1,2:1 y 1,3:1) para predecir mejor el tipo de daño y/o respuesta y disminuir la variabilidad.

En base a lo relatado, los resultados de nuestro ensayo de implante de stents en arterias coronarias porcinas y su análisis morfométrico mediante microscopía estereoscópica trifocal validan el modelo porcino como instrumento eficaz en la valoración de la respuesta proliferativa que estos dispositivos desencadenan. Asimismo confirman que este modelo es adecuado para la valorar la respuesta proliferativa al daño vascular, siendo ésta proporcional a la profundidad del mismo.

6.3. *Histomorfometría y stents*

6.3.1. *Evaluación de la estabilidad vascular*

Nuestros datos muestran que el promedio del tamaño del vaso (área contenida en la LEE) poststent aumentó para los cuatro grupos de tratamiento respecto a arterias sanas, y de los cuatro, el grupo BARE, presentó cierto grado de remodelado negativo con respecto a los otros tres grupos. Este hecho se explica porque en este grupo, la mayoría de las arterias analizadas (el 70%) tenían un daño vascular tipo 2, y aunque si bien, el stent “previene” el remodelado negativo en términos generales, también no es menos cierto que a mayor daño, existe mayor respuesta proliferativa de la adventicia que tiende hacia la cicatrización retráctil. En cualquier caso, nuestros resultados indican que no hubo diferencias

significativas en el área de LEE entre los grupos de stents con paclitaxel y los grupos control sin paclitaxel sean stents desnudos o con polímero, lo que sugiere *la ausencia de dilatación vascular tras los 28 días de observación*. Asimismo el área de la tunica media (ATM), aunque se incrementó en todos los stents, respecto a arterias sanas, sean con o sin paclitaxel no es menos cierto que las diferencias entre ellos no fueron significativas, lo que permite suponer que no hubo un efecto tóxico importante del fármaco.

Estos datos de evaluación de la estabilidad vascular como efecto tóxico del fármaco, son concordantes con lo publicado por Wilson (2007) en relación con el stent TAXUS[®], que aunque con cinética de liberación más lenta (el 1% a los 7 días), pero con dosis de paclitaxel de 1 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (3 y 6 veces superiores a las nuestras) tampoco observó cambios en el tamaño final del vaso a las 4 semanas de seguimiento. Silva (2009) con los stents comerciales TAXUS[®] y CYPHER[®], no encontró diferencias significativas en el tamaño final del vaso a los 30 días de la implantación; sin embargo Jabara (2006), con un nuevo SFA con polímero *bioabsorbible (completa degradación en 4-6 semanas)* y dosis moderadas de paclitaxel (0,30-0,35 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$) demostró una consistente y profunda toxicidad vascular, consistente en necrosis de la capa media, dilatación del vaso, malposición y depósito de trombos, que no fue observada en el stent desnudo ni el stent con polímero pero sin paclitaxel, lo que sugiere que la liberación rápida de la droga desde el stent es responsable de este fenómeno, a pesar de la dosis moderada de paclitaxel en comparación con otros stents de uso comercial o bajo investigación clínica. Por consiguiente creemos que la cinética de liberación y las dosis empleadas en nuestro estudio (0,17 y 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$), y a pesar de la estrecha ventana terapéutica del paclitaxel (de citostático a citotóxico), son seguras y no difieren sustancialmente de lo publicado con

el stent TAXUS® a nivel preclínico y con en el mismo periodo de seguimiento.

Quiero señalar que nuestro estudio no fue diseñado para periodos de seguimiento prolongados, por lo que desconocemos el comportamiento a largo plazo de nuestros SFA, aunque sospechamos que probablemente al utilizar dosis bajas de paclitaxel y cinética de liberación moderada, se minimicen los posibles efectos tóxicos a largo plazo, a pesar de que los stents con menos dosis de paclitaxel mostraban mayor ATM que los de dosis más alta.

6.3.2. Evaluación de la toxicidad en función de dosis/eficacia.

Como acabamos de comentar, cuando comparamos el grupo de stents con paclitaxel (independientemente de la dosis del fármaco) frente al grupo de stents sin paclitaxel (stents desnudos y stents con polímero P5), no existen diferencias entre los grupos con respecto al tamaño final del vaso ni en el área de la túnica media, por lo que se podría desprender que el paclitaxel a las dosis utilizadas en este modelo y con el dispositivo utilizado no tiene efecto tóxico de relevancia sobre el tamaño final del vaso. Ahora bien, el tamaño final del vaso no “define” la eficacia del fármaco empleado, pero otros factores como el diseño del stent, el tipo y espesor del polímero de recubrimiento, la dosis total y la farmacocinética de la droga empleada si son factores determinantes en la concentración tisular final durante el periodo terapéutico o activo del SFA y por lo tanto si definen su eficacia.

Ante estos considerandos y alcanzada, cualquiera que sea, la concentración tisular final, ¿tiene nuestro dispositivo una relación de toxicidad y dosis/eficacia adecuada?

El estudio de Jabara (Jabara, 2006) utilizando una plataforma de stent de cromo-cobalto y paclitaxel a dosis muy superiores a las de nuestro ensayo (1,75-2,11 $\mu\text{m}/\text{mm}^2$) embebidas en un polímero bioabsorbible, en un modelo porcino con un diseño de grupos similar al nuestro, mostró que el grupo de paclitaxel tenía una gran potencia antiproliferativa pero mostraba una consistente y severa toxicidad vascular comparada con la respuesta tisular de los grupos controles de stent desnudo o solo polímero. Esta toxicidad se manifestaba por una severa necrosis de la capa túnica media que permite la dilatación de la pared del vaso por fuera del stent y el depósito de trombo en el hueco resultante subyacente al stent, respuesta tóxica que no fue observada en los otros dos grupos y que parecía atribuible a la presencia del paclitaxel, sugiriendo que la ventana terapéutica del paclitaxel puede no ser tan amplia como se infiere.

Anteriormente, Heldman (2001) en un modelo porcino de reestenosis y utilizando stents recubiertos de paclitaxel a diferentes dosis, algunas muy altas, (0, 0,2, 15 y 187 $\mu\text{g}/\text{stent}$) señal que el fármaco provoca una significativa inhibición dosis-dependiente de la hiperplasia neointimal a los 28 días de la implantación, si bien, cuando utilizaba las dosis más altas también observó efectos citotóxicos locales que se manifestaban por adelgazamiento de la capa media, hemorragia y necrosis celular.

En contraposición a estos estudios y conocido que la eficacia antiproliferativa de los SFA de nuestro proyecto está bien documentada, nuestros datos señalan que *a pesar de utilizar dosis de paclitaxel inferiores*

a otros ensayos preclínicos, no sólo no hemos observado efectos tóxicos, sino que tampoco se ha perdido la eficacia antiproliferativa del fármaco. Así todos los stents estaban recubiertos por una neointima bien desarrollada a los 28 días y no se detectaron trombos manifiestos, y aunque como ya hemos comentado, este proyecto no se diseñó para valorar el calendario del grado de endotelización y/o grado de inflamación/depósitos de fibrina, ni su comportamiento con seguimientos más prolongados, en nuestro grupo de trabajo si disponemos de datos en relación con la seguridad y comportamiento clínico de la plataforma y el polímero de recubrimiento del stent que relatamos a continuación.

Se han realizado estudios de biocompatibilidad “in vitro” con P5® demostrándose una excelente biocompatibilidad en contacto con fibroblastos humanos y sin cambios en los parámetros de coagulación o inducción de depósitos plaquetarios (Fernández-Gutiérrez, 2002; Badimón, 2003; San Román, 2004). En el estudio “inhibición de la reestenosis en el modelo porcino” (Uriach coated-stents as drug delivery Systems (UCOSDESY 3)) de Lina Badimón (2005), se compara el stent Apolo® con el stent Apolo® recubierto con P5®, el stent Apolo® + P5® embebido en tres dosis diferentes de simvastatina y el stent comercial TAXUS®; en sus conclusiones se resalta la ausencia de procesos de vasculitis asociados a inflamación, irritación o sensibilización del tejido, lo que demuestra la seguridad del stent Apolo® con recubrimiento polimérico.

El polímero P5® es un polímero bioestable, como la mayoría de los polímeros utilizados como transportadores y dispensadores de fármacos en los SFA de las primeras generaciones disponibles en el mercado (Cypher®, Taxus®, Endeavor®, Xience V®, Irist®). La utilización del polímero P5, formado a partir del triflusal, supone una innovación en el abordaje de este

problema, permitiendo un entorno antiagregante en el sitio de la implantación del stent. Nuestro grupo (Pérez de Prado, 2009), presentó en el EuroPCR 2009, un estudio que compara en el modelo porcino el grado de endotelización y la respuesta inflamatoria a los 7 días del stent Apolo[®], del stent Apolo[®] recubierto con el polímero P5[®], del stent IRIST[®] (stent liberador de simvastatina con la plataforma Apolo[®] y polímero P5[®]) y del stent comercial TAXUS[®]. A los 7 días, la endotelización del stent Apolo[®], del P5[®] y del IRIST[®] fue del 97%, 97% y 98% respectivamente y la del stent TAXUS[®] del 72%, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. El stent APOLO[®] mostró una menor respuesta inflamatoria que el resto de los grupos (1%, 4%, 7% y 11%, respectivamente), siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

En el ensayo clínico IRIST, realizado por nuestro grupo (Betriu 2009), se comparó el stent IRIST[®] (77 pacientes) frente al stent Apolo[®] (44 pacientes), con randomización 2:1 y seguimiento a 9 meses. Se demostró una restenosis binaria del 4,5% en el grupo IRIST[®] frente al 19,4% en el grupo APOLO[®] ($p = 0,02$). Estos resultados, aunque preliminares, confirman la seguridad y la eficacia clínica del stent APOLO[®] y del stent APOLO[®] recubierto con el polímero P5[®] y simvastatina.

La eficacia antiproliferativa del SFA de nuestro proyecto queda bien documentada, y con los datos aportados se refuerza la seguridad y eficacia de la plataforma Apolo[®] y el recubrimiento polimérico P5[®], no obstante se necesitan otros estudios que nos permitan valorar la toxicidad del fármaco en términos de endotelización y respuesta inflamatoria crónica.

6.3.3. Eficacia de los stents con paclitaxel

Las arterias coronarias porcinas tienen una estructura y fisiología similar a las arterias coronarias humanas, y la máxima hiperplasia neointimal en cerdos es inducida en las cuatro semanas siguientes a la sobre-expansión con angioplastia con balón o stent (Karas, 1992; Badimon, 1998), además es importante recordar que los estudios que investigan el efecto de un dispositivo y/o un agente experimental sobre la inhibición de la reestenosis postangioplastia en el modelo porcino tienen que intentar causar un grado de daño vascular similar entre el grupo experimental y el control para evitar posibles confusiones (Babapulle 2002).

En nuestro ensayo, como ya hemos citado anteriormente, el daño vascular alcanzado es independiente de la arteria coronaria donde se implanta el stent; no obstante, sí se establecen diferencias significativas al relacionar el tipo de stent (con fármaco vs sin fármaco) y el daño vascular, siendo los grupos de stents con paclitaxel, con una u otra dosis, los que tuvieron significativamente menor daño vascular (69% con integridad de la LEI; $p= 0,008$). No encontramos una justificación fisiopatológica para este hecho, pues en todo caso, la presencia de paclitaxel a altas dosis podría provocar un mayor daño de la pared vascular (Robinson, 2007; Jabara 2006); quizás una explicación sería el menor tamaño de la muestra en el grupo de stents sin paclitaxel. Otra explicación, aunque no hubo diferencias significativas entre los grupos en la ganancia del tamaño final del vaso tras la expansión del stent, sería que en la valoración angiográfica de la relación balón/arteria se sobrevalore a los SFA, ya que su recubrimiento polimérico aumenta la rigidez del dispositivo, y aunque angiográficamente la relación sea adecuada, no podemos asegurar que a la misma presión de expansión del dispositivo las fuerzas de impacto del stent contra la pared vascular se

distribuyan y sean de la misma intensidad, provocando por tanto diferentes grados de daño vascular; la realización de procedimientos guiados por ecografía intravascular podría minimizar este posible sesgo.

Aceptando de forma global el menor daño vascular de los stent con paclitaxel e independientemente de la dosis, nuestros datos también revelan que el grupo de paclitaxel tuvo una respuesta proliferativa significativamente menor que el grupo sin paclitaxel, referidos a un incremento del área de la luz del vaso ($p = 0,001$), una reducción del área de neoíntima, del índice AN/LEE y de la reestenosis. No obstante debemos señalar que al comparar los stents con y sin paclitaxel en función del daño vascular (integridad o no de la LEI), las diferencias significativas en las variables de proliferación se mantienen en el subgrupo de mayor daño vascular, mientras que en el subgrupo de stents con integridad de la LEI no existen diferencias significativas entre ambos grupos, y que al comparar independientemente cada grupo en función del daño vascular, el grupo de stent sin paclitaxel mostró diferencias significativas en las variables de proliferación en función del grado de daño, pero no así el grupo con fármaco, cuyas variables de proliferación no mostraron diferencias significativas tal y como se pone de manifiesto en los resultados (tablas XXIX-XXXII).

De acuerdo con lo citado, nuestros resultados muestran que el stent con paclitaxel e independientemente de la dosis, en el modelo de arteria coronaria sana del cerdo, es significativamente superior al stent sin paclitaxel en términos globales de eficacia antiproliferativa, *con una reducción mayor del 55% de la hiperplasia neointimal y del 52% en términos de reestenosis* e incluso cuando se comparan los subgrupos de mayor daño vascular se obtiene una reducción de más del doble de la

hiperplasia neointimal y de la restenosis; sin embargo cuando existe integridad de la LEI no se obtiene un beneficio significativo al compararlo al stent sin fármaco con integridad de la LEI (figura 56). En suma, estos resultados confirman la potente acción antiproliferativa del paclitaxel.

En esta línea y como se ha comentado previamente, existe suficiente evidencia científica que relaciona la proporcionalidad de la intensidad del daño vascular y la respuesta proliferativa, sin embargo la gran mayoría de estos trabajos preclínicos han sido realizados antes de la introducción en la práctica clínica de los stents fármaco-activos (Schwartz, 1992; Gunn 2002). Los estudios preclínicos con SFA, cuyo objetivo principal es testar la eficacia y seguridad de la droga, siguen la misma metodología, consiguiendo grupos homogéneos y balanceados tanto en el tamaño de la muestra como en la uniformidad del daño vascular, manteniendo el dogma: “a mayor daño mayor respuesta proliferativa”, sin embargo, no hemos encontrado trabajos específicos que relacionen detalladamente esta proporcionalidad, probablemente porque no se han considerado, o no son necesarios.

A pesar de ello y para dar mayor solidez, si cabe, a nuestros resultados hemos querido explorar esta proporcionalidad aplicando diferentes técnicas de análisis multivariado y hemos podido demostrar que cuando valoramos la respuesta proliferativa de los SFA en función del daño vascular no guarda el mismo grado de proporcionalidad que los stents convencionales, pues a partir del punto de corte (integridad de la LEI) la respuesta proliferativa está marcada por la eficacia antiproliferativa del fármaco y no por la intensidad del daño. Esta observación, aparentemente obvia, conlleva implicaciones clínicas y de eficiencia importantes, pues aunque en la práctica clínica no es una situación frecuente, cuando existe

integridad de la LEI no debería existir un beneficio adicional significativo cuando utilizamos un SFA en lugar de un stent desnudo (por ejemplo, en los SCA de origen embólico o cuando tratamos de “sellar” con stents la migración de un trombo o una disección helicoidal). Por otro lado, y en la misma línea conceptual, se podría pensar que la respuesta proliferativa seguida a la denudación endotelial, sobreexpansión del vaso y compresión de la capa media con integridad de la LEI tiene dianas terapéuticas o mecanismos diferentes a los explorados actualmente con los SFA y ello justifique el “menor” poder antiproliferativo de los mismos cuando el daño vascular no es significativo.

Algunos autores (Bauters, 1997; Hu, 2004) sugieren que la integridad de LEI ejerce de barrera y previene la migración de células musculares lisas o sus células progenitoras y con la rotura de la misma se perdería ese papel de barrera preventiva. El paradigma actual de la proliferación neointimal en la reestenosis es el cambio fenotípico de las células musculares lisas, de células contráctiles a células con capacidad de síntesis y es por ello que las investigaciones se han centrado en modular este cambio fenotípico y de cómo inhibir su migración y proliferación (Bauters 1997). Sin embargo, se está incrementando la evidencia de que los componentes celulares de la neoíntima se originan desde los miofibroblastos adventiciales (Scott 1996; Shi 1996; Li 2000; Hu 2004) o de células madre derivadas de médula ósea que migran a través de la adventicia a las capas media e íntima (Fukuda 2004; Sata 2002). De acuerdo con este concepto, Tian W. (2006) y cols. en arterias ilíacas del cerdo, mostraron que la administración percutánea adventicial de paclitaxel a dosis de 5 y 50 μ g inhiben la reestenosis postangioplastia con balón; Hou D (2000), también en modelo porcino, mostró la inhibición de la reestenosis y del remodelado negativo postangioplastia coronaria con la

administración de paclitaxel intrapericárdico. Es por ello, que creemos que en las nuevas generaciones de SFA se explorará la sinergia de fármacos con dianas terapéuticas diferentes y/o la combinación de distintos mecanismos de liberación.

Por otro lado y a semejanza de estudios previos con stents recubiertos de paclitaxel y sirolimus (Suzuki 2001; Morice 2002; Moses 2003; Heldman 2001), nosotros hemos encontrado a las cuatro semanas una reducción significativa de las variables de proliferación neointimal con el stent Apolo® recubierto de paclitaxel, e independiente de las dosis empleada ($0,17 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ y $0,32 \mu\text{g}/\text{mm}^2$). Así con ambas dosis, el área de neoformación (AN) se redujo en un 33% con respecto al grupo de stent desnudo y en un 54% con respecto al grupo de stent con polímero ($p=0,001$). *La tasa de área de reestenosis fue del 17% para los dos grupos de paclitaxel, frente al 29% y 40% para los grupos de stent desnudo y stent con recubrimiento polimérico respectivamente ($p=0,001$); las diferencias entre el grupo BARE y P5 no alcanzaron significación estadística, probablemente porque el número de casos es insuficiente. Estos resultados son concordantes con lo publicado en modelos porcinos por Wilson (2007) con respecto al stent TAXUS®, por Carter (2004) con el stent Cypher®, y por Finn (2005) en modelos de arteria ilíaca de conejo, confirmando la potente acción antiproliferativa del paclitaxel y la gran eficacia de este nuevo dispositivo. En relación con los valores de LEE y LEI que se midieron en las arterias del estudio, cabe destacar que dichas variables no presentaron diferencias significativas entre los grupos, en función de la presencia o no de paclitaxel.*

Con dosis y mecanismo de recubrimiento y liberación de fármaco diferente, Scheller y cols. (2005), valoraron en un modelo porcino la

eficacia de un SFA con un mecanismo de recubrimiento y liberación de la droga diferente al nuestro, pero con paclitaxel a dosis de $0,21 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ y $1,44 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ (la dosis empleadas en nuestro estudio fueron de $0,17 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ y $0,32 \mu\text{g}/\text{mm}^2$); el área de la neoíntima (AN) con la dosis baja fue de $1,73 \text{mm}^2$ (AN en nuestro estudio de $1,61 \text{mm}^2$) y de $0,61 \text{mm}^2$ con la dosis alta; sin embargo la dosis alta se asoció a un exceso de mortalidad por trombosis subaguda del stent a pesar del tratamiento antiagregante adecuado, por lo que la ventana de dosis terapéutica del paclitaxel parece ser estrecha, y con una dosis 7 veces la basal (entre 5 y 12 veces la utilizada en nuestro estudio) se consigue un aumento significativo de la eficacia pero también parece demostrarse que disminuye su seguridad.

Asimismo con otro tipo de stent y recubrimiento, Bhargava (2006) compara en modelo porcino la respuesta de stents porosos de cromo-cobalto recubiertos de nanopartículas de carbón-carbón embebidas con dosis bajas ($0,2 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) o moderadas ($0,4 \mu\text{g}/\text{mm}^2$) de paclitaxel frente a dispositivos con la misma plataforma de stent; y encuentra que el área de neoíntima a las seis semanas fue de $1,4$ y $1,8 \text{mm}^2$ respectivamente y la reestenosis del 27 y 33%. Al igual que en nuestro proyecto, en este estudio se utilizan bajas dosis de paclitaxel y consiguen un área de neoformación también similar con una mayor tasa de reestenosis que podría ser explicada por la menor ganancia inicial del calibre vaso postimplantación del stent y/o por la tecnología de liberación.

Con otra metodología de liberación de la droga diferente al modelo de stent, el paclitaxel también ha demostrado eficacia antiproliferativa superponible a la conseguida en nuestro estudio: Scheller y cols. (2004) con balones convencionales de angioplastia coronaria, utilizando como solvente la acetona y recubiertos de paclitaxel ($2,5 \mu\text{g}/\text{mm}^2$), mostró que

estos dispositivos eran seguros y eficaces en la inhibición de la reestenosis postangioplastia en el modelo porcino, y que la reducción de la hiperplasia neointimal era comparable a la conseguida con SFA (reducción del área de neoíntima del 63%); Dommke (2007) utilizando también balones de angioplastia recubiertos de paclitaxel ($24,8 \pm 13,7 \mu\text{g}/\text{balón}$), consigue una reducción del 59% en el área de neoíntima en relación con el grupo control; Scheller (2003) y Speck (2006), también en el modelo porcino, mostraron la eficacia dosis-dependiente del paclitaxel ($100 \mu\text{mol}/\text{l}$ y $200 \mu\text{mol}/\text{l}$) añadido al medio de contraste (iopromida) intracoronario, en la prevención de reestenosis; asimismo Albrecht (2007), también en modelo porcino pero en arterias no coronarias, señala igualmente la eficacia del paclitaxel disuelto en medio de contraste o en el recubrimiento de balones, en la reducción de la hiperplasia intimal postangioplastia.

A modo de resumen, los resultados de nuestro estudio preclínico confirman la seguridad y eficacia de este nuevo SFA, que tiene una potente acción antiproliferativa (área de reestenosis del 17%). Nuestros datos muestran que en un modelo porcino de lesión coronaria, *el stent APOLO®* (stent tubular, de celda abierta, de acero inoxidable quirúrgico 316 LVM modificado mediante implantación de iones oxígeno por deposición física de vapor y no ferromagnético. Iberhospitex, Lliçà de Vall, Barcelona, España), *con recubrimiento de polímero bioestable P5®* (polímero no biodegradable, acrílico portador de triflusal. Uriach Coated-Stents as Drug Delivery Systems. UCOSDESY) y *la incorporación de paclitaxel en dos dosificaciones* ($0,17 \mu\text{g}/\text{mm}^2$ y $0,32 \mu\text{g}/\text{mm}^2$), es igual de eficaz a ambas dosis en la prevención de reestenosis coronaria postratamiento a los 28 días de seguimiento e induce una menor área de estenosis coronaria cuando se le compara con el mismo stent desnudo (sin recubrimiento) o con el stent desnudo con recubrimiento polimérico sin la incorporación de paclitaxel.

6.4. Sobre los modelos matemáticos realizados

El análisis discriminante se ha empleado con el fin de crear un modelo clasificador de los IS de los stents en función de las variables LEI, AN, LEE, ATM, AL, AN/LEE, REESTENOSIS y PRESIÓN. A través de dicho análisis se ha podido determinar qué variables son las de mayor influencia a la hora de realizar dicha clasificación. En este caso han sido AN y AN/LEE, llegándose a obtener un modelo con un porcentaje de clasificaciones correctas del 81,80%.

Tras la realización del modelo discriminante, se realizaron modelos de regresión lineal de la variable reestenosis con el fin de determinar el valor de dicha variable a partir del resto de variables continuas del estudio. La ecuación obtenida de esta técnica presentó un valor de R2 ajustado del 98,90%. Este modelo lineal multivariantes emplea las variables AL, AN/LEE y ATM.

Dado que alguna de las variables del estudio no son continuas sino discretas (IS cualitativo, presencia de paclitaxel, etc.) el estudio de la influencia de dichas variables sobre el grado de reestenosis no se debe de abordar por medio de modelos lineales multivariantes. Para superar dicha dificultad, se emplearon modelos multivariantes de splines adaptativos regresivo (MARS) tanto para la variable REESTENOSIS como para AN. En ambos modelos se introducen variables discretas, en este caso cualitativas y además se obtienen valores de R2 ajustado que superan los obtenidos por medio de los modelos de regresión lineal multivariante. Los modelos MARS no sólo resultan de utilidad con el fin de predecir el valor de REESTENOSIS, sino también para poder discernir la importancia de cada variable en el modelo a partir de los coeficientes de cada una de ellas.

Así, en las figuras 60 y 63 se observa la clasificación de importancia de las variables a la hora de la realización de los modelos de AN.

6.5. *Limitaciones del estudio*

Aunque el objetivo general de nuestro estudio fue valorar la eficacia terapéutica de un nuevo stent liberador de paclitaxel en la prevención de reestenosis, mediante histomorfometría cuantitativa de secciones histopatológicas y se ha conseguido, el presente ensayo tiene no obstante las limitaciones propias de los modelos experimentales de reestenosis en mamífero grande, cuales son el relativo escaso número de animales de experimentación y el hecho de inducir una lesión sobre una arteria sana. Si bien la respuesta proliferativa obtenida en estas arterias permite evaluar la actividad del fármaco, desconocemos si este efecto sería el mismo en coronarias con alto contenido de material aterosclerótico y en las que, por lo tanto, pueden participar otros mediadores bioquímicos en el proceso de reparación vascular. Además, la presencia de otros factores moleculares o genéticos de los pacientes con aterosclerosis puede intervenir directamente en el proceso, como la mayor presencia de lipoproteínas de baja densidad oxidada, la hiperinsulinemia o la hipertensión arterial.

Por otra parte, en la actualidad conocemos que la respuesta arterial reparadora tras la implantación de un SFA es multifactorial y probablemente responsable de la temida trombosis tardía asociada a la primera generación de SFA. En esta línea, creemos que en el diseño de futuros estudios preclínicos que tengan como objetivo la evaluación de SFA, además de incluir la valoración histomorfométrica de la respuesta proliferativa a los 28 días en condiciones favorables, se deben incluir objetivos más amplios que reproduzcan mejor su empleo en la vida real,

como es el solapamiento de stents o su uso en bifurcaciones y/o lesiones ostiales y lo que es más importante, en términos de seguridad, conocer el impacto de factores como endotelización, inflamación y depósitos de fibrina, cinéticas de liberación, respuesta vasomotora y la propia reducción de la respuesta proliferativa con seguimientos más amplios, que nos ayuden a comprender la importante relación entre los modelos animales y los resultados de los ensayos clínicos.

6.6. Implicaciones clínicas

El stent Apolo[®] obtuvo la marca CEE en el año 2000 y desde entonces se ha convertido en un dispositivo seguro de uso habitual en los laboratorios de hemodinámica, con una tasa de reestenosis binaria menor del 20%. Utilizando como plataforma el stent Apolo[®], se incorporó el polímero P5[®] como transportador del fármaco simvastatina (stent Irist[®]) y en el año 2007 se realizaron los primeros implantes en humanos; el ensayo clínico IRIST confirmó la seguridad y eficacia del dispositivo, con una tasas de reestenosis binaria del 4,5%, obteniendo la marca CEE en el año 2009.

La eficacia del paclitaxel como droga antiproliferativa es bien conocida y el stent Taxus[®] es, junto con el Cypher[®], el SFA mejor documentado en la literatura científica. Los excelentes resultados en la práctica clínica desde su aprobación para uso comercial en el año 2003, han extendido su empleo hasta los grupos de pacientes de alto riesgo, con una tasa de nueva revascularización inferior al 5% en todos ellos.

El diseño (plataforma, transportador y fármaco) del nuevo SFA que presentamos en este trabajo combinan el diseño de un stent de

última generación (Apolo[®]), la seguridad y biocompatibilidad de un polímero específicamente diseñado para el uso (P5[®]) y la eficacia antiproliferativa del fármaco paclitaxel ampliamente utilizado en numerosos ensayos clínicos con otras plataformas y transportadores.

Así las características particulares de este nuevo SFA, en el que sus tres componentes han demostrado de forma independiente su seguridad y eficacia en ensayos clínicos previos, nuestros resultados aportan información rigurosa y de alto contenido científico suficiente para poder tomar decisiones con respecto a su uso en ensayos clínicos y comercialización. No obstante, consideramos muy importante que de forma paralela se continúen realizando estudios preclínicos del calendario específico de endotelización y de la respuesta inflamatoria y proliferativa con seguimientos más amplios.

CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos y teniendo en cuenta las limitaciones propias de este tipo de estudio podemos formular las siguientes conclusiones:

1. En nuestra muestra, todos los stents, independientemente de su estructura, recubrimiento y liberación del fármaco activo, aparecían recubiertos por una neointima bien desarrollada a los 28 días de la implantación de los mismos.

2. Cualquiera que fuese el stent colocado, el tamaño del vaso, el área de la luz y el área de neointima aumentaron significativamente respecto a segmentos arteriales sanos.

3. En nuestro ensayo, el daño vascular, el grado de reestenosis y la respuesta proliferativa son independientes de la arteria de implantación; aunque la arteria circunfleja fue la de mayor neoformación y reestenosis.

4. Según nuestros datos, para el conjunto de stents el daño vascular más frecuente fue el grado 1 y su incremento se correspondió con una retracción significativa del tamaño del vaso y de las variables histomorfométricas que expresan proliferación neointimal.

5. En nuestra muestra, para una misma intensidad de daño vascular, el comportamiento del tamaño del vaso es semejante para todos los stents con o sin paclitaxel, de tal manera que el paclitaxel no tiene relevancia sobre el tamaño final del vaso, como respuesta al estiramiento del mismo producido por la expansión del stent.

6. En nuestro estudio, la respuesta proliferativa de los stents sin paclitaxel fue proporcional y estadísticamente significativa en función del tipo de daño vascular. Sin embargo, en los stents con paclitaxel, aunque la respuesta es proporcional al tipo de daño, la eficacia del fármaco minimiza de forma significativa el incremento de la respuesta proliferativa en función del mismo.

7. Con nuestros datos, los stent con paclitaxel con una u otra de las dosis utilizadas provoca significativamente menos respuesta proliferativa y en general mejores resultados histomorfométricos que el resto de stents en estudio, siendo esta respuesta independiente de la dosis.

8. En nuestros cerdos, el menor grado o porcentaje de reestenosis (17%) se obtuvo con los stents con paclitaxel seguido de los stents Apolo[®] (29%) y los recubiertos con polímero P5[®] (40%), con diferencias estadísticamente significativas.

9. Según nuestros resultados, los stents Apolo[®] en estudio recubiertos de polímero P5[®] y paclitaxel a dosis de 0,17 y 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$, producen significativamente menor reestenosis que los stents Apolo[®] sin recubrimiento y que los stents Apolo[®] recubiertos de polímero P5[®].

10. En nuestro ensayo, el grado de reestenosis provocado por los stents con paclitaxel es semejante e independientemente de la dosis utilizada, ya sea de 0,17 o de 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$.

11. De acuerdo con nuestros datos, los stents fármaco-activos Apolo[®] con paclitaxel son eficaces en la prevención de reestenosis coronaria postratamiento, lo que nos permite aceptar la hipótesis inicial de:

“El stent con polímero P5 y paclitaxel produce menos reestenosis que el resto de stents en estudio”.

12. Se necesitan otros estudios preclínicos que valoren la eficacia de estos stents fármaco-activos a largo plazo, y lo que es más importante, que valoren de forma específica su seguridad en la prevención de la trombosis tardía.

RESUMEN

INFLUENCIA DE DIFERENTES MODELOS DE STENTS EN LA REESTENOSIS DE ARTERIAS CORONARIAS

Introducción: a pesar de los intentos realizados con unos y otros fármacos y stents no se ha conseguido abolir la reestenosis con los dispositivos actualmente disponibles, aunque a día de hoy, la mejor herramienta del cardiólogo intervencionista es el stent fármaco activo (SFA), que controla los aspectos mecánicos relacionados con la reactividad vascular, asociado a un fármaco local, que intenta controlar la respuesta proliferativa.

Objetivos: determinar si los stents Apolo[®] con polímero P5[®] y paclitaxel a dosis de 0,17 µg/mm² (P5/T 0,5) y 0,32 µg/mm² (P5/T 1) son eficaces en la prevención de la reestenosis coronaria postratamiento. Como controles se utilizaron el stent Apolo[®] (BARE) y el stent Apolo[®] recubierto de polímero P5[®] (P5).

Método: en 20 cerdas domésticas (25 ±3 Kg) se implantaron un total de 60 stents distribuidos en cuatro grupos, siendo la adjudicación a cada una de las tres arterias coronarias aleatoria. Todos los stents implantados fueron del mismo calibre y longitud y la relación diámetro del stent / diámetro de la arteria fue entre 1,2-1,3/1 en todos los casos. Se implantaron 20 stents en cada uno de los grupos con paclitaxel: P5/T 0,5 (grupo 1) y P5/T 1 (grupo 2), y 10 en cada uno de los grupos sin paclitaxel: BARE (grupo 3) y P5 (grupo 4). La eutanasia se realizó a los 28 días. Para el estudio histológico, las secciones de las muestras se tiñeron mediante la técnica de tricrómico de Masson o la de Van-Gieson y el análisis histomorfométrico se realizó mediante microscopía estereoscópica trifocal (Olimpus SZ61) con cámara digital mediante el programa Image-Pro plus 4.0, Media Cybernetics. Para el grado de daño vascular se utilizó la clasificación de Schwartz (1992) modificada.

Resultados: no hubo diferencias significativas en la histomorfometría entre los grupos en función de la arteria coronaria dónde fue implantado el stent ni al relacionar la arteria y el grado de daño vascular ($\chi^2= 4,243$; $p= 0,120$). El área de neoíntima (media en mm² (I.C. al 95%)) entre los cuatro grupos, fue significativamente menor en los grupos con paclitaxel (1,57 (1,16-1,99) vs 1,65 (1,14-2,15) vs 2,40 (1,81-3,00) vs 3,49 (2,37-4,61); $p = 0,001$). El área de la luz (media en mm² (I.C. al 95%)) fue significativamente mayor en los grupos con paclitaxel (7,39 (6,59-8,19) vs 7,57 (7,03-8,12) vs 6,16 (3,52-7,52) vs 5,52 (6,47-7,41); $p = 0,006$). El área de reestenosis (media en % (I.C. al 95%)) fue significativamente menor en los grupos con paclitaxel (17,49 (13,78-21,2) vs 17,33 (13,47-21,1) vs 28,52 (20,52-36,5) vs 39,91 (24,27-55,5); $p = 0,001$). No hubo diferencias significativas entre los grupos en las variables lámina elástica externa (LEE, $p= 0,709$), lámina elástica interna (LEI, $p=0,768$) y área de la túnica media (ATM, $p= 0,529$). No se establecieron diferencias significativas en función de la dosis entre los grupos de paclitaxel, ni tampoco al comparar el grupo BARE con el grupo P5.

Conclusiones: entre los dos grupos de stents recubiertos de paclitaxel no hubo diferencias en la inhibición de la respuesta proliferativa. Los stents con paclitaxel (P5/ T 0,5 y P5/ T 1) fueron más eficaces que los otros dos grupos en la inhibición de la respuesta proliferativa y aunque tanto el grupo BARE como el P5 incrementan la reestenosis respecto a los de paclitaxel en más de una y media y dos veces respectivamente, las diferencias entre ambos no son significativas.

INFLUENCE OF DIFFERENT CORONARY STENT MODELS IN CORONARY ARTERY RESTENOSIS

Introduction: Despite of different coronary artery stents and drugs available, coronary artery restenosis has not been completely abolished with current coronary artery stents. To date, the best option for interventional cardiologist are drug eluting stents (DES), which regulate mechanical issues such as vascular reactivity, in association with local drug delivery in an attempt to control the proliferative response.

Objetives: Determine whether Apolo[®] stent with polymer P5[®] and paclitaxel at a dose of 0,17 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (P5/T 0,5) and 0,32 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ (P5/T 1) are effective in the prevention of post-treatment coronary restenosis. Bare metal Apolo[®] stent (BARE) and Apolo[®] stent coated with polymer P5[®] (P5) were used as controls.

Methods: In 20 female pigs (25 ± 3 Kg) 60 stents were deployed, with aleatory distribution to one of the three coronary arteries. All the stents deployed had the same diameter and length. The ratio stent-diameter to artery-diameter was 1,2-1,3/1 in all cases. 20 stents were used in the P5/T 0,5 group (group 1), 20 stents in the P5/T 1 group (group 2), 10 stents in the BARE group (group 3), and 10 stents in the P5 group (group 4). All the animals completed a follow-up period of 28 days. For histological analysis, sections of the samples were stained with Masson's trichromic technique or Van Gieson technique. Histomorphometric analysis was performed on digital images acquired with trifocal stereoscopic microscope OLIMPUS SZ61 using the software Image-Pro plus 4.0, Media Cybernetics. In order to determine the rate of vascular healing, Schwartz modified classification (1992) was used. All the measured areas are expressed mean (95% C.I.).

Results: No significant differences were found on histomorphometric analysis between groups depending on location of stent implantation in the coronary artery, neither on comparison of coronary artery and the rate of vascular healing ($p= 0,120$). Neointimal area (mm^2) was significantly lower in paclitaxel groups: 1,57 (1,16-1,99) vs 1,65 (1,14-2,15) vs 2,40 (1,81-3,00) vs 3,49 (2,37-4,61), $p = 0,001$. Vascular area (mm^2) was significantly higher in paclitaxel groups: 7,39 (6,59-8,19) vs 7,57 (7,03-8,12) vs 6,16 (3,52-7,52) vs 5,52 (6,47-7,41), $p = 0,006$. Restenosis area (%) was significantly lower in paclitaxel groups: 17,49 (13,78-21,2) vs 17,33 (13,47-21,1) vs 28,52 (20,52-36,5) vs 39,91 (24,27-55,5), $p = 0,001$. No significant differences between groups were found in the following variables: area within external elastic lamina ($p= 0,709$), area within internal elastic lamina area ($p=0,768$) and medial area ($p= 0,529$). No significant differences were found between the two paclitaxel groups, neither between the two control groups.

Conclusions: Paclitaxel eluting stents (P5/ T 0,5 and P5/ T 1) were more effective than the control stents in the inhibition of the proliferative response. Although both BARE group and P5 group show higher restenosis area as compared to paclitaxel groups (x1.5 and x2, respectively), the differences between these two groups were not significant. No differences were observed between the 2 groups of paclitaxel DES in the inhibition of the proliferative response.

BIBLIOGRAFÍA

Abizaid A, Kornowski R, Mintz GS, Hong MK, Abizaid AS, Mehran R, *et al.* **The influence of diabetes mellitus on acute and late clinical outcomes following coronary stent implantation.** J Am Coll Cardiol 1998; 32:584-589.

Abizaid A, Mintz GS, Abizaid AS, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, *et al.* **Role of intravascular ultrasound and Doppler flow studies in coronary interventions.** Indian Heart J 1998; 50: 99-103.

Abizaid A, Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Walsh CL, *et al.* **Clinical, intravascular ultrasound, and quantitative angiographic determinants of the coronary flow reserve before and after percutaneous transluminal coronary angioplasty.** Am J Cardiol 1998; 82:423-428.

Abraham SA, McKenzie C, Masin D, Ng R, Harasym TO, Mayer LD, *et al.* **In vitro and in vivo characterization of doxorubicin and vincristine coencapsulated within liposomes through use of transition metal ion complexation and pH gradient loading.** Clin Cancer Res 2004;10:728-38

Adelman AG, Cohen EA, Kimball BP, Bonan R, Ricci DR, Webb JG, *et al.* **A comparison of directional atherectomy with balloon angioplasty for lesions of the left anterior descending coronary artery.** N Engl J Med 1993; 329:228-233.

Akiyama T, Moussa I, Reimers B, Ferraro M, Kobayashi Y, Blengino S, *et al.* **Angiographic and clinical outcome following coronary stenting of small vessels: a comparison with coronary stenting of large vessels.** J Am Coll Cardiol 1998;32:1610-1618.

Albiero R, Silber S, Di Mario C, Cernigliaro C, Battaglia S, Reimers B, *et al.* **Cutting balloon versus conventional balloon angioplasty for the treatment of in-stent restenosis: results of the restenosis cutting balloon evaluation trial (RESCUT).** J Am Coll Cardiol 2004; 43:943-949.

Albrecht T, Speck U, Baier C, Wolf KJ, Bohm M, Scheller B. **Reduction of stenosis due to intimal hyperplasia after stent supported angioplasty of peripheral arteries by local administration of paclitaxel in swine.** Invest Radiol 2007; 42:579-585.

Alter A, Rozenszajn LA, Miller HI, Rosenschein U. **Ultrasound inhibits the adhesion and migration of smooth muscle cells in vitro.** Ultrasound Med Biol 1998; 24:711-721.

Amar S, Roy V, Perez EA. **Treatment of metastatic breast cancer: looking towards the future.** Breast Cancer Res Treat 2009; 114:413-422.

Austin GE, Ratliff NB, Hollman J, Tabei S, Phillips DF. **Intimal proliferation of smooth muscle cells as an explanation for recurrent coronary artery stenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.** J Am Coll Cardiol 1985; 6:369-375.

Axel DI, Kunert W, Goggelmann C, Oberhoff M, Herdeg C, Kuttner A, *et al.* **Paclitaxel inhibits arterial smooth muscle cell proliferation and migration in vitro and in vivo using local drug delivery.** Circulation 1997; 96: 636-645.

Azar RR, Prpic R, Ho KK, Kiernan FJ, Shubrooks SJ Jr, Baim DS, Popma JJ, Kuntz RE, Cohen DJ. **Impact of end-stage renal disease on clinical and angiographic outcomes after coronary stenting.** Am J Cardiol 2000; 86:485-9.

Babapulle MN, Eisenberg MJ. **Coated stents for the prevention of restenosis: Part I.** Circulation 2002; 106:2734-2740.

Babapulle MN, Eisenberg MJ. **Coated stents for the prevention of restenosis: Part II.** Circulation 2002; 106:2859-2866.

Badimon L. **Models to study thrombotic disorders.** Thromb Haemost 1997; 78:667-671.

Badimon L, Alfon J, Royo T, Berrozpe M, Martinez-Gonzalez J, Vidal F, *et al.* **Cell biology of restenosis post-angioplasty.** Z Kardiol 1995; 4:145-149.

Badimon L, Martinez-Gonzalez J. **Endothelium and vascular protection: an update.** Rev Esp Cardiol 2002; 55:17-26.

Badimon L. **Uriach Coated-Stents as Drug Delivery Systems (UCODESY 1,2 y 3).** Centro de Investigación Cardiovascular (CSIC). Manual del investigador: anexos 2 y 7. Junio 2005. IBERHOSPITEX S.A. Estudio IRIST.

Baumbach A, Herdeg C, Kluge M, Oberhoff M, Lerch M, Haase KK, *et al.* **Local drug delivery: impact of pressure, substance characteristics, and stenting on drug transfer into the arterial wall.** *Catheter Cardiovasc Interv* 1999;47:102-106.

Bauters C, Isner JM. **The biology of restenosis.** *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 40:107-16.

Bauters C, Lablanche JM, Van Belle E, Niculescu R, Meurice T, Mc Fadden EP, *et al.* **Effects of coronary stenting on restenosis and occlusion after angioplasty of the culprit vessel in patients with recent myocardial infarction.** *Circulation* 1997; 96:2854-2858.

Baz JA, Pinar E, Albarran A, Mauri J. Spanish Cardiac Catheterization and Coronary Intervention Registry. **17th official report of the Spanish Society of Cardiology Working Group on Cardiac Catheterization and Interventional Cardiology (1990-2007).** *Rev Esp Cardiol* 2008; 61:1298-1314.

Berg R, Aragon J, Royter V, Shanley JF, Cogert G, Vermani R, *et al.* **Pimecrolimus and dual pimecrolimus-paclitaxel eluting stents decrease neointimal proliferation in a porcine model.** *Catheter Cardiovasc Interv* 2007; 70:871-879.

Bertrand OF, Sipehia R, Mongrain R, Rodes J, Tardif JC, Bilodeau L, *et al.* **Biocompatibility aspects of new stent technology.** *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:562-571.

Betriu A, Serra A, Masotti M, Delcan JL, Garcia E, Colman T, *et al.* **The Spanish trial: are national randomized trials a necessary evil?** J Interv Cardiol 1994; 7:347-353.

Betriu A, Serra A, Iñiguez A, Esplugas E, Fernández-Vázquez F. **Clinical Trial IRIST I.** Presentado en EuroPCR: Barcelona, 2009.

Bhargava B, Reddy NK, Karthikeyan G, Raju R, Mishra S, Singh S, *et al.* **A novel paclitaxel-eluting porous carbon-carbon nanoparticle coated, nonpolymeric cobalt-chromium stent: evaluation in a porcine model.** Catheter Cardiovasc Interv 2006; 67:698-702.

Bloor BC, Frankland M, Alper G, Raybould D, Weitz J, Shurtliff M. **Hemodynamic and sedative effects of dexmedetomidine in dog.** J Pharmacol Exp Ther 1992; 263:690-697.

Bottcher HD. **Endovascular radioprevention of intimal hyperplasia after percutaneous transluminal angioplasty of peripheral blood vessels.** Radiologe 1994; 34: 519-523.

Bottcher HD, Schopohl B, Liermann D, Kollath J, Adamietz IA. **Endovascular irradiation--a new method to avoid recurrent stenosis after stent implantation in peripheral arteries: technique and preliminary results.** Int J Radiat Oncol Biol Phys 1994; 29:183-186.

Carter AJ. **Drug-eluting stents for the prevention of restenosis: Standing the test of time.** Catheter Cardiovasc Interv 2002; 57:69-71.

Carter AJ, Aggarwal M, Kopia GA, Tio F, Tsao PS, Kolata R, *et al.* **Long-term effects of polymer-based, slow-release, sirolimus-eluting stents in a porcine coronary model.** *Cardiovasc Res* 2004; 63:617-624.

Carter AJ, Bailey L, Devries J, Hubbard B. **The effects of uncontrolled hyperglycemia on thrombosis and formation of neointima after coronary stent placement in a novel diabetic porcine model of restenosis.** *Coron Artery Dis* 2000; 11:473-479.

Carter AJ, Laird JR, Farb A, Kufs W, Wortham DC, Virmani R. **Morphologic characteristics of lesion formation and time course of smooth muscle cell proliferation in a porcine proliferative restenosis model.** *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:1398-1405.

Castagna MT, Mintz GS, Waksman R, Ahmed JM, Maehara A, Ajani AE, *et al.* **Comparative efficacy of gamma-irradiation for treatment of in-stent restenosis in saphenous vein graft versus native coronary artery in-stent restenosis: An intravascular ultrasound study.** *Circulation* 2001; 104:3020-3022.

Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, *et al.* **Randomized study to assess the effectiveness of slow- and moderate-release polymer-based paclitaxel-eluting stents for coronary artery lesions.** *Circulation* 2003; 108:788-794.

Colombo A, Hall P, Nakamura S, Almagor Y, Maiello L, Martini G, *et al.* **Intracoronary stenting without anticoagulation accomplished with intravascular ultrasound guidance.** *Circulation* 1995; 91:1676-1688.

Colombo A, Orlic D, Stankovic G, Corvaja N, Spanos V, Montorfano M, *et al.* **Preliminary observations regarding angiographic pattern of restenosis after rapamycin-eluting stent implantation.** *Circulation* 2003;107:2178-2180.

Condado JA. **Basis of endovascular radiation therapy in human coronary arteries.** *Semin Interv Cardiol* 1997;2:115-118.

Corcos T, David PR, Val PG, Renkin J, Dangoisse V, Rapold HG, *et al.* **Failure of diltiazem to prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty.** *Am Heart J* 1985; 109:926-931.

D. Peña Sánchez De Rivera. **Analisis de datos multivariantes.** McGraw-Hill, 2002.

Dahl T, Rudjord K, Altreuther M, Myhre HO. **Data quality of surgery for carotid artery stenosis. Are the national vascular registries reliable?** *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006; 31:381-385.

Dawkins KD, Grube E, Guagliumi G, Banning AP, Zmudka K, Colombo A, *et al.* **Clinical efficacy of polymer-based paclitaxel-eluting stents in the treatment of complex, long coronary artery lesions from a multicenter, randomized trial: support for the use of drug-eluting stents in contemporary clinical practice.** *Circulation* 2005; 112:3306-3313.

Di Mario C, Gil R, Camenzind E, Ozaki Y, von Birgelen C, Umans V, *et al.* **Quantitative assessment with intracoronary ultrasound of the mechanisms of restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty and directional coronary atherectomy.** *Am J Cardiol* 1995; 75:772-777.

Diez-Juan A, Perez P, Aracil M, Sancho D, Bernad A, Sanchez-Madrid F, *et al.* **Selective inactivation of p27(Kip1) in hematopoietic progenitor cells increases neointimal macrophage proliferation and accelerates atherosclerosis.** *Blood* 2004; 103:158-161.

Dill T, Dietz U, Hamm CW, Kuchler R, Rupprecht HJ, Haude M, *et al.* **A randomized comparison of balloon angioplasty versus rotational atherectomy in complex coronary lesions (COBRA study).** *Eur Heart J* 2000; 21:1759-1766.

Dobesh PP, Stacy ZA, Ansara AJ, Enders JM. **Drug-eluting stents: a mechanical and pharmacologic approach to coronary artery disease.** *Pharmacotherapy* 2004; 24:1554-1577.

Domcke C, Haase KK, Suselbeck T, Streitner I, Hagi D, Metz J, *et al.* **Local paclitaxel delivery after coronary stenting in an experimental animal model.** *Thromb Haemost* 2007; 98:674-680.

Dorros G, Cowley MJ, Simpson J, Bentivoglio LG, Block PC, Bourassa M, *et al.* **Percutaneous transluminal coronary angioplasty: report of complications from the National Heart, Lung, and Blood Institute PTCA Registry.** *Circulation* 1983; 67:723-730.

Drachman DE, Edelman ER, Seifert P, Groothuis AR, Bornstein DA, Kamath KR, *et al.* **Neointimal thickening after stent delivery of paclitaxel: change in composition and arrest of growth over six months.** J Am Coll Cardiol 2000; 36: 2325-2332.

Dussaillant GR, Mintz GS, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, Popma JJ, *et al.* **Small stent size and intimal hyperplasia contribute to restenosis: a volumetric intravascular ultrasound analysis.** J Am Coll Cardiol 1995; 26:720-724.

Elvira C, Fanovich A, Fernandez M, Fraile J, San Roman J, Domingo C. **Evaluation of drug delivery characteristics of microspheres of PMMA-PCL-cholesterol obtained by supercritical-CO₂ impregnation and by dissolution-evaporation techniques.** J Control Release 2004; 99:231-240.

Erbel R, Haude M, Hopp HW, Franzen D, Rupprecht HJ, Heublein B, *et al.* **Coronary-artery stenting compared with balloon angioplasty for restenosis after initial balloon angioplasty. Restenosis Stent Study Group.** N Engl J Med 1998; 339:1672-1678.

Escudero C, Santos M, Bujan J, Fuente M, Honduvilla NG, Banas E, *et al.* **Optical aggregometry versus the PFA-100: experimental studies in pigs treated with propofol.** Platelets 2001; 12:133-137.

Fanelli C, Aronoff R. **Restenosis following coronary angioplasty.** Am Heart J 1990; 119:357-368.

Farb A, Heller PF, Shroff S, Cheng L, Kolodgie FD, Carter AJ, *et al.* **Pathological analysis of local delivery of paclitaxel via a polymer-coated stent.** *Circulation* 2001; 104:473-479.

Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, Walley VM, Edwards WD, Schwartz RS, *et al.* **Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans.** *Circulation* 1999;99:44-52.

Farb A, Virmani R, Atkinson JB, Kolodgie FD. **Plaque morphology and pathologic changes in arteries from patients dying after coronary balloon angioplasty.** *J Am Coll Cardiol* 1990; 16:1421-1429.

Farhan S, Hemetsberger R, Matiasek J, Strehblow C, Pavo N, Khorsand A, *et al.* **Implantation of paclitaxel-eluting stent impairs the vascular compliance of arteries in porcine coronary stenting model.** *Atherosclerosis* 2009; 202:144-151.

Fernández Gutiérrez. **Ensayos de biocompatibilidad in vitro.** Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros CSIC. Manual del investigador: anexo 6. Junio 2005. IBERHOSPITEX S.A. Estudio IRIST.

Finn AV, Kolodgie FD, Harnek J, Guerrero LJ, Acampado E, Tefera K, *et al.* **Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus or paclitaxel-eluting stents.** *Circulation* 2005; 112:270-278.

Fischman DL, Leon MB, Baim DS, Schatz RA, Savage MP, Penn I, *et al.*
A randomized comparison of coronary-stent placement and balloon angioplasty in the treatment of coronary artery disease. Stent Restenosis Study Investigators. N Engl J Med 1994; 331:496-501.

Fitzgerald PJ, Oshima A, Hayase M, Metz JA, Bailey SR, Baim DS, *et al.*
Final results of the Can Routine Ultrasound Influence Stent Expansion (CRUISE) study. Circulation 2000; 102:523-530.

Foley DP, Melkert R, Serruys PW. **Influence of coronary vessel size on renarrowing process and late angiographic outcome after successful balloon angioplasty.** Circulation 1994; 90:1239-1251.

Forrester JS, Fishbein M, Helfant R, Fagin J. **A paradigm for restenosis based on cell biology: clues for the development of new preventive therapies.** J Am Coll Cardiol 1991; 17:758-769.

Friedman, JH (1991). **Multivariate Adaptive Regression Splines (with discussion),** Annals of Statistics, 19, 1-141.

Fuchs S, Baffour R, Stabile E, Kornowski R. **Percutaneous Approach to Achieve Therapeutic Myocardial Angiogenesis.** Curr Interv Cardiol Rep 2001; 3:192-197.

Fukuda D, Shimada K, Tanaka A, Kawarabayashi T, Yoshiyama M, Yoshikawa J. **Circulating monocytes and in-stent neointima after coronary stent implantation.** J Am Coll Cardiol. 2004; 43:18-23.

G. Mclachlan. **Discriminant Analysis and Statistical Pattern Recognition** (Wiley Series in Probability and Statistics). Wiley-Interscience: United States of America, 2004.

Gal D, Chokshi SK, Mosseri M, Clarke RH, Isner JM. **Percutaneous delivery of low-level laser energy reverses histamine-induced spasm in atherosclerotic Yucatan microsine**. *Circulation* 1992; 85:756-768.

Garasic JM, Edelman ER, Squire JC, Seifert P, Williams MS, Rogers C. **Stent and artery geometry determine intimal thickening independent of arterial injury**. *Circulation* 2000; 101:812-818.

Gershlick AH. **Rescue percutaneous coronary intervention for failed thrombolysis is the evidence base coming of age?** *Ital Heart J* 2004; 5:746-748.

Giannakakou P, Robey R, Fojo T, Blagosklonny MV. **Low concentrations of paclitaxel induce cell type-dependent p53, p21 and G1/G2 arrest instead of mitotic arrest: molecular determinants of paclitaxel-induced cytotoxicity**. *Oncogene* 2001; 20:3806-3813.

Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. **Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries**. *N Engl J Med* 1987; 316:1371-1375.

Gregorini L, Marco J, Fajadet J, Bernies M, Cassagneau B, Brunel P, *et al.* **Ticlopidine and aspirin pretreatment reduces coagulation and platelet activation during coronary dilation procedures**. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29:13-20.

Grube E, Mueller R, Lim V, Schmidt T, Gerckens U, Buellesfeld L. **Evaluation of a new polymer-coated paclitaxel-eluting stent for treatment of de novo lesions: six-month clinical and angiographic follow-up results of the APPLAUSE trial.** J Invasive Cardiol 2006; 18:194-198.

Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Buellesfeld L, Mueller R, Lim V, *et al.* **Two-year-plus follow-up of a paclitaxel-eluting stent in de novo coronary narrowings (TAXUS I).** Am J Cardiol 2005; 96:79-82.

Grube E, Silber S, Hauptmann KE, Mueller R, Buellesfeld L, Gerckens U, *et al.* **TAXUS I: six- and twelve-month results from a randomized, double-blind trial on a slow-release paclitaxel-eluting stent for de novo coronary lesions.** Circulation 2003; 107:38-42.

Gruntzig A. **Transluminal dilatation of coronary-artery stenosis.** Lancet 1978; 1:263.

Gruntzig A, Schneider HJ. **The percutaneous dilatation of chronic coronary stenoses--experiments and morphology.** Schweiz Med Wochenschr 1977; 107:1588.

Gunn J, Arnold N, Chan KH, Shepherd L, Cumberland DC, Crossman DC. **Coronary artery stretch versus deep injury in the development of in-stent neointima.** Heart 2002; 88:401-405.

Halkin A, Mehran R, Casey CW, Gordon P, Matthews R, Wilson BH, *et al.* **Impact of moderate renal insufficiency on restenosis and adverse clinical events after paclitaxel-eluting and bare metal stent implantation: results from the TAXUS-IV Trial.** Am Heart J 2005; 150:1163-1170.

Halkin A, Singh M, Nikolsky E, Grines CL, Tcheng JE, Garcia E, *et al.* **Prediction of mortality after primary percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction: the CADILLAC risk score.** J Am Coll Cardiol 2005; 45:1397-1405.

Halkin A, Stone GW, Dixon SR, Grines CL, Tcheng JE, Cox DA, *et al.* **Impact and determinants of left ventricular function in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction.** Am J Cardiol 2005; 96:325-331.

Halkin A, Stone GW, Grines CL, Cox DA, Stuckey TD, Garcia E, *et al.* **Outcomes of patients consented but not randomized in a trial of primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction (the CADILLAC registry).** Am J Cardiol 2005; 96:1649-1655.

Hamon M, Petrescu V, Rossi P, Commeau P, Wittenberg O, Jouve B, *et al.* **Initial and follow-up results of the European Seaquence coronary stent registry.** J Interv Cardiol 2004;17:9-15.

Heidland UE, Michel CJ, Heintzen MP, Strauer BE. **Operation or angioplasty in coronary heart disease--a summary of prospective randomized studies.** Dtsch Med Wochenschr 2000; 125:1475-1480.

Heidland UE, Strauer BE. **Left ventricular muscle mass and elevated heart rate are associated with coronary plaque disruption.** *Circulation* 2001; 104:1477-1482.

Heldman AW, Brinker JA. **The messenger and the message: Preventing restenosis.** *Catheter Cardiovasc Interv* 2001; 53:569-570.

Heldman AW, Cheng L, Jenkins GM, Heller PF, Kim DW, Ware M, Jr., *et al.* **Paclitaxel stent coating inhibits neointimal hyperplasia at 4 weeks in a porcine model of coronary restenosis.** *Circulation* 2001; 103:2289-2295.

Herdeg C, Oberhoff M, Baumbach A, Blattner A, Axel DI, Schroder S, *et al.* **Local paclitaxel delivery for the prevention of restenosis: biological effects and efficacy in vivo.** *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:1969-1976.

Hogrefe RI. **An antisense oligonucleotide primer.** *Antisense Nucleic Acid Drug* 1999; 9:351-357.

Holmes DR, Jr. **Platelet glycoprotein receptor site blockade in coronary artery disease.** *Curr Cardiol Rep* 2000; 2:69-73.

Holmes DR, Jr., Vlietstra RE, Smith HC, Vetrovec GW, Kent KM, Cowley MJ, *et al.* **Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): a report from the PTCA Registry of the National Heart, Lung, and Blood Institute.** *Am J Cardiol* 1984; 53:77-81.

Hong MK, Beyar R, Kornowski R, Tio FO, Bramwell O, Leon MB. **Acute and chronic effects of self-expanding nitinol stents in porcine coronary arteries.** *Coron Artery Dis* 1997; 8:45-48.

Hong MK, Kornowski R, Bramwell O, Ragheb AO, Leon MB. **Paclitaxel-coated Gianturco-Roubin II (GR II) stents reduce neointimal hyperplasia in a porcine coronary in-stent restenosis model.** *Coron Artery Dis* 2001; 12:513-515.

Hou D, Rogers PI, Toleikis PM, Hunter W, March KL. **Intrapericardial paclitaxel delivery inhibits neointimal proliferation and promotes arterial enlargement after porcine coronary overstretch.** *Circulation* 2000; 102:1575-1581.

Hoye A, Lemos PA, Arampatzis CA, Saia F, Tanabe K, Degertekin M, *et al.* **Effectiveness of sirolimus-Eluting stent implantation for coronary narrowings <50% in diameter.** *Am J Cardiol* 2004; 94:112-114.

Hoye A, Lemos PA, Arampatzis CA, Saia F, Tanabe K, Degertekin M, *et al.* **Effectiveness of the sirolimus-eluting stent in the treatment of patients with a prior history of coronary artery bypass graft surgery.** *Coron Artery Dis* 2004; 15:171-175.

Hoye A, Onderwater E, Cummins P, Sianos G, Serruys PW. **Improved recanalization of chronic total coronary occlusions using an optical coherence reflectometry-guided guidewire.** *Catheter Cardiovasc Interv* 2004; 63:158-163.

Hu Y, Zhang Z, Torsney E, Afzal AR, Davison F, Metzler B, Xu Q. **Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice.** J Clin Invest. 2004; 113:1258-65.

Huang Y, Salu K, Wang L, Liu X, Li S, Lorenz G, *et al.* **Use of a tacrolimus-eluting stent to inhibit neointimal hyperplasia in a porcine coronary model.** J Invasive Cardiol 2005; 17:142-148.

Huberty, Carl J. y Stephen Olejnik. **Applied MANOVA and discriminant analysis**, 2d ed. Wiley-Interscience: United States of America, 2006.

Hwang CW, Wu D, Edelman ER. **Physiological transport forces govern drug distribution for stent-based delivery.** Circulation 2001; 104:600-605.

J. Etxeberría. **Regresión Múltiple.** La Muralla-Hespérides: Madrid, 1999.

Jabara R, Chronos N, Tondato F, Conway D, Molema W, Park K, Mabin T, King S, Robinson K. **Toxic vessel reaction to an absorbable polymer-based paclitaxel-eluting stent in pig coronary arteries.** J Invasive Cardiol 2006; 18:383-90.

Jones EL, King SB. **Intraoperative angioplasty in the treatment of coronary artery disease.** J Am Coll Cardiol 1983; 1:970-971.

Kamath KR, Barry JJ, Miller KM. **The Taxus drug-eluting stent: a new paradigm in controlled drug delivery.** Adv Drug Deliv Rev 2006; 58:412-436.

Karas SP, Gravanis MB, Santoian EC, Robinson KA, Anderberg KA, King SB. **Coronary intimal proliferation after balloon injury and stenting in swine: an animal model of restenosis.** J Am Coll Cardiol 1992; 20:467-474.

Kassab GS, Fung YC. **Topology and dimensions of pig coronary capillary network.** Am J Physiol 1994; 267:319-325.

Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, Dotzer F, Schuhlen H, Neumann FJ, *et al.* **Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO) trial.** Circulation 2001; 103:2816-2821.

Kastrati A, Mehilli J, Dirschinger J, Pache J, Ulm K, Schuhlen H, *et al.* **Restenosis after coronary placement of various stent types.** Am J Cardiol 2001; 87:34-39.

Kastrati A, Schomig A, Elezi S, Dirschinger J, Mehilli J, Schuhlen H, *et al.* **Prognostic value of the modified american college of Cardiology/American heart association stenosis morphology classification for long-term angiographic and clinical outcome after coronary stent placement.** Circulation 1999; 100:1285-1290.

Kastrati A, Schomig A, Elezi S, Schuhlen H, Dirschinger J, Hadamitzky M, *et al.* **Predictive factors of restenosis after coronary stent placement.** J Am Coll Cardiol 1997; 30:1428-1436.

Kastrati A, Schomig A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Bottiger C, *et al.* **PIA polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement.** *Circulation* 1999; 99:1005-1010.

Kastrati A, Schuhlen H, Hausleiter J, Walter H, Zitzmann-Roth E, Hadamitzky M, *et al.* **Restenosis after coronary stent placement and randomization to a 4-week combined antiplatelet or anticoagulant therapy: six-month angiographic follow-up of the Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen (ISAR) Trial.** *Circulation* 1997; 96:462-467.

Kay IP, Ligthart JM, Virmani R, van Beusekom HM, Kozuma K, Carter AJ, *et al.* **The black hole: echolucent tissue observed following intracoronary radiation.** *Int J Cardiovasc Intervent* 2003; 5:137-142.

Kent KM, Bentivoglio LG, Block PC, Bourassa MG, Cowley MJ, Dorros G, Detre KM, Gosselin AJ, Gruentzig AR, Kelsey SF, *et al.* **Long-term efficacy of percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): report from the National Heart, Lung, and Blood Institute PTCA Registry.** *Am J Cardiol.* 1984; 53:27-31.

Kent KM, Bentivoglio LG, Block PC, Cowley MJ, Dorros G, Gosselin AJ, Gruntzig A, Myler RK, Simpson J, Stertz SH, Williams DO, Fisher L, Gillespie MJ, Detre K, Kelsey S, Mullin SM, Mock MB. **Percutaneous transluminal coronary angioplasty: report from the Registry of the National Heart, Lung, and Blood Institute.** *Am J Cardiol.* 1982; 49:2011-20.

Khachigian LM. **Catalytic DNAs as potential therapeutic agents and sequence-specific molecular tools to dissect biological function.** J Clin Invest 2000; 106:1189-1195.

Kimura T, Kaburagi S, Tamura T, Yokoi H, Nakagawa Y, Hamasaki N, *et al.* **Remodeling of human coronary arteries undergoing coronary angioplasty or atherectomy.** Circulation 1997; 96:475-483.

Kitazume H, Ichiro K, Iwama T, Ageishi Y. **Repeat coronary angioplasty as the treatment of choice for restenosis.** Am Heart J 1996; 132:711-715.

Knight CJ, Curzen NP, Groves PH, Patel DJ, Goodall AH, Wright C, *et al.* **Stent implantation reduces restenosis in patients with suboptimal results following coronary angioplasty.** Eur Heart J 1999; 20:1783-1790.

Kolodgie FD, John M, Khurana C, Farb A, Wilson PS, Acampado E, *et al.* **Sustained reduction of in-stent neointimal growth with the use of a novel systemic nanoparticle paclitaxel.** Circulation 2002; 106:1195-1198.

Kornowski R, Hong MK, Tio FO, Bramwell O, Wu H, Leon MB. **In-stent restenosis: contributions of inflammatory responses and arterial injury to neointimal hyperplasia.** J Am Coll Cardiol 1998; 31:224-230.

Kornowski R, Klutstein M, Satler LF, Pichard AD, Kent KM, Abizaid A, *et al.* **Impact of stents on clinical outcomes in percutaneous left main coronary artery revascularization.** Am J Cardiol 1998; 82:32-37.

Kornowski R, Lansky AJ, Mintz GS, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, *et al.* **Comparison of men versus women in cross-sectional area luminal narrowing, quantity of plaque, presence of calcium in plaque, and lumen location in coronary arteries by intravascular ultrasound in patients with stable angina pectoris.** *Am J Cardiol* 1997; 79:1601-1605.

Kornowski R, Mintz GS, Kent KM, Pichard AD, Satler LF, Bucher TA, *et al.* **Increased restenosis in diabetes mellitus after coronary interventions is due to exaggerated intimal hyperplasia. A serial intravascular ultrasound study.** *Circulation* 1997; 95:1366-1369.

Kozuma K, Costa MA, Sabate M, Serrano P, van der Giessen WJ, Ligthart JM, *et al.* **Late stent malapposition occurring after intracoronary beta-irradiation detected by intravascular ultrasound.** *J Invasive Cardiol* 1999; 11:651-655.

Kuntz RE, Safian RD, Levine MJ, Reis GJ, Diver DJ, Baim DS. **Novel approach to the analysis of restenosis after the use of three new coronary devices.** *Am Coll Cardiol* 1992; 19:1493-9.

Kuntz RE, Baim DS. **Defining coronary restenosis. Newer clinical and angiographic paradigms.** *Circulation.* 1993; 88:1310-23.

Kuntz RE, Keaney KM, Senerchia C, Baim DS. **A predictive method for estimating the late angiographic results of coronary intervention despite incomplete ascertainment.** *Circulation.* 1993; 87:815-30.

Kuntz RE, Gibson CM, Nobuyoshi M, Baim DS. **Generalized model of restenosis after conventional balloon angioplasty, stenting and directional atherectomy.** *J Am Coll Cardiol* 1993; 21:15-25.

Laarman GJ, Suttorp MJ, Dirksen MT, van Heerebeek L, Kiemeneij F, Slagboom T, *et al.* **Paclitaxel-eluting versus uncoated stents in primary percutaneous coronary intervention.** N Engl J Med 2006; 355:1105-13.

Lambert M, Bonan R, Cote G, Crepeau J, de Guise P, Lesperance J, *et al.* **Multiple coronary angioplasty: a model to discriminate systemic and procedural factors related to restenosis.** J Am Coll Cardiol 1988; 12:310-314.

Lansky AJ, Costa RA, Mintz GS, Tsuchiya Y, Midei M, Cox DA, *et al.* **Non-polymer-based paclitaxel-coated coronary stents for the treatment of patients with de novo coronary lesions: angiographic follow-up of the DELIVER clinical trial.** Circulation 2004; 09:1948-1954.

Le Feuvre C, Bonan R, Lesperance J, Gosselin G, Joyal M, Crepeau J. **Predictive factors of restenosis after multivessel percutaneous transluminal coronary angioplasty.** Am J Cardiol 1994; 73:840-844.

Leon MB, Teirstein PS, Moses JW, Tripuraneni P, Lansky AJ, Jani S, *et al.* **Localized intracoronary gamma-radiation therapy to inhibit the recurrence of restenosis after stenting.** N Engl J Med 2001; 344:250-256.

Leslie WD, Siminoski K, Brown JP. **Comparative Effects of Densitometric and Absolute Fracture Risk Classification Systems on Projected Intervention Rates in Postmenopausal Women.** J Clin Densitom 2007; 2:124-131.

Li G, Chen SJ, Oparil S, Chen YF, Thompson JA. **Direct in vivo evidence demonstrating neointimal migration of adventitial fibroblasts after balloon injury of rat carotid arteries.** *Circulation* 2000; 101:1362-5

Libby P. **Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes.** *Circulation* 2001; 104:365-372.

Libby P, Aikawa M. **Evolution and stabilization of vulnerable atherosclerotic plaques.** *Jpn Circ J* 2001; 65:473-479.

Lincoff AM, Topol EJ, Ellis SG. **Local drug delivery for the prevention of restenosis. Fact, fancy, and future.** *Circulation* 1994; 90:2070-2084.

Liu MW, Roubin GS, King SB, 3rd. **Restenosis after coronary angioplasty. Potential biologic determinants and role of intimal hyperplasia.** *Circulation* 1989; 79:1374-1387.

Lowe CR, Lowe AR, Gupta G. **New developments in affinity chromatography with potential application in the production of biopharmaceuticals.** *J Biochem Biophys Methods* 2001; 49:561-574.

Lowe HC, Chesterman CN, Khachigian LM. **Does thrombus contribute to in-stent restenosis in the porcine coronary stent model?** *Thromb Haemost* 2001; 85:1117-1118.

Lowe HC, Houser SL, Aretz T, MacNeill BD, Oesterle SN, Palacios IF. **Significant atheromatous debris following uncomplicated vein graft direct stenting: evidence supporting routine use of distal protection devices.** *J Invasive Cardiol* 2002; 14:636-639.

Lowe HC, Kumar RK, Chesterman CN, Fahmy RG, Khachigian LM. **Coronary stent thrombosis: insights from the porcine coronary stent model.** *Thromb Haemost* 2001; 86:937-938.

M. Guillén. **Análisis de regresión múltiple.** CIS, Cuaderno metodológico nº 4. Montalbán: Madrid, 1992

Martinez Elbal L. **Direct stenting: the decline of balloon?.** *Rev Esp Cardiol* 2002; 55:703-704.

Martinez-Elbal L, Ruiz-Nodar JM, Zueco J, Lopez-Minguez JR, Moreu J, Calvo I, *et al.* **Direct coronary stenting versus stenting with balloon pre-dilation: immediate and follow-up results of a multicentre, prospective, randomized study. The DISCO trial. DIrect Stenting of COronary Arteries.** *Eur Heart J* 2002;23:633-640.

Mauri L, Bonan R, Weiner BH, Legrand V, Bassand JP, Popma JJ, *et al.* **Cutting balloon angioplasty for the prevention of restenosis: results of the Cutting Balloon Global Randomized Trial.** *Am J Cardiol* 2002; 90:1079-1083.

McFadden EP, Stabile E, Regar E, Cheneau E, Ong AT, Kinnaird T, *et al.* **Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy.** *Lancet* 2004; 364:1519-1521.

Mehran R, Dangas G, Abizaid AS, Mintz GS, Lansky AJ, Satler LF, *et al.* **Angiographic patterns of in-stent restenosis: classification and implications for long-term outcome.** *Circulation* 1999; 100:1872-1878.

MERCATOR. Does the new angiotensin converting enzyme inhibitor cilazapril prevent restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty? **Results of the MERCATOR study: a multicenter, randomized, double-blind placebo-controlled trial.** *Circulation* 1992; 86:100-110.

Mintz GS, Kovach JA, Javier SP, Pichard AD, Kent KM, Popma JJ, *et al.* **Mechanisms of lumen enlargement after excimer laser coronary angioplasty. An intravascular ultrasound study.** *Circulation* 1995; 92:3408-3414.

Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Salter LF, Chuang YC, *et al.* **Intravascular ultrasound predictors of restenosis after percutaneous transcatheter coronary revascularization.** *J Am Coll Cardiol* 1996; 27:1678-1687.

Mintz GS, Popma JJ, Pichard AD, Kent KM, Salter LF, Chuang YC, *et al.* **Patterns of calcification in coronary artery disease. A statistical analysis of intravascular ultrasound and coronary angiography in 1155 lesions.** *Circulation* 1995; 91:1959-1965.

Miyauchi K, Kasai T, Yokoyama T, Aihara K, Kurata T, Kajimoto K, Okazaki S, Ishiyama H, Daida H. **Effectiveness of statin-eluting stent on early inflammatory response and neointimal thickness in a porcine coronary model.** *Circ J.* 2008; 72:832-8.

Moreno R, Fernandez C, Alfonso F, Hernandez R *et al.* **Coronary stenting versus balloon angioplasty in small vessels: a meta-analysis from 11 randomized studies.** *J Am Coll Cardiol* 2004; 43:1964-1972.

Moreno R. **Drug-eluting stents and other anti-restenosis devices.** Rev Esp Cardiol 2005; 58:842-862.

Moreno R, Salazar A, Banuelos C, Hernandez R, Alfonso F, Sabate M, *et al.* **Effectiveness of percutaneous coronary interventions in nonagenarians.** Am J Cardiol 2004; 94:1058-1060.

Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, *et al.* **A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization.** N Engl J Med 2002; 346:1773-1780.

Moscucci M, Piana RN, Kuntz RE, Kugelmass AD, Carrozza JP Jr, Senerchia C, Baim DS. **Effect of prior coronary restenosis on the risk of subsequent restenosis after stent placement or directional atherectomy.** Am J Cardiol 1994; 73:1147-53.

Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, *et al.* **Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery.** N Engl J Med 2003; 349:1315-1323.

Moussa I, Colombo A. **Coronary stenting: "current state of the art".** Rev Port Cardiol 1999;18:175-84.

Moussa I, Moses J, Di Mario C, Albiero R, De Gregorio J, Adamian M, *et al.* **Does the specific intravascular ultrasound criterion used to optimize stent expansion have an impact on the probability of stent restenosis?** Am J Cardiol 1999;83:1012-1017.

Muotri AR, da Veiga Pereira L, dos Reis Vasques L, Menck CF. **Ribozymes and the anti-gene therapy: how a catalytic RNA can be used to inhibit gene function.** *Gene* 1999; 237:303-310.

Myler RK, Shaw RE, Stertz SH, Clark DA, Fishman J, Murphy MC. **Recurrence after coronary angioplasty.** *Cathet Cardiovasc Diagn* 1987; 13:77-86.

Myler RK, Topol EJ, Shaw RE, Stertz SH, Clark DA, Fishman J, *et al.* **Multiple vessel coronary angioplasty: classification, results, and patterns of restenosis in 494 consecutive patients.** *Cathet Cardiovasc Diagn* 1987; 13:1-15.

Nakazawa G, Finn AV, John MC, Kolodgie FD, Virmani R. **The significance of preclinical evaluation of sirolimus-, paclitaxel-, and zotarolimus-eluting stents.** *Am J Cardiol* 2007; 100:36M-44M.

Nicolaou KC, Riemer C, Kerr MA, Rideout D, Wrasidlo W. **Design, synthesis and biological activity of protaxols.** *Nature* 1993; 364:464-466.

Nicolaou KC, Yang Z, Liu JJ, Ueno H, Nantermet PG, Guy RK, *et al.* **Total synthesis of taxol.** *Nature* 1994; 367:630-634.

Nobuyoshi M, Kimura T, Nosaka H, Mioka S, Ueno K, Yokoi H, *et al.* **Restenosis after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty: serial angiographic follow-up of 229 patients.** *J Am Coll Cardiol* 1988; 12:616-623.

Nobuyoshi M, Kimura T, Ohishi H, Horiuchi H, Nosaka H, Hamasaki N, *et al.* **Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty: pathologic observations in 20 patients.** J Am Coll Cardiol 1991; 17:433-439.

Oberhoff M, Herdeg C, Al Ghobainy R, Cetin S, Kuttner A, Horch B, *et al.* **Local delivery of paclitaxel using the double-balloon perfusion catheter before stenting in the porcine coronary artery.** Catheter Cardiovasc Interv 2001; 53:562-568.

Pache J, Kastrati A, Mehilli J, Schuhlen H, Dotzer F, Hausleiter J, *et al.* **Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO-2) trial.** J Am Coll Cardiol 2003; 41:1283-1288.

Paranandi SN, Topol EJ. **Contemporary clinical trials of restenosis.** J Invasive Cardiol 1994; 6:109-124.

Park SJ, Lee CW, Kim YH, Lee JH, Hong MK, Kim JJ, *et al.* **Technical feasibility, safety, and clinical outcome of stenting of unprotected left main coronary artery bifurcation narrowing.** Am J Cardiol 2002; 90:374-378.

Park SJ, Shim WH, Ho DS, Raizner AE, Park SW, Hong MK, *et al.* **A paclitaxel-eluting stent for the prevention of coronary restenosis.** N Engl J Med 2003; 348:1537-1545.

Pepine CJ. **The importance of timing of thrombolytic therapy as shown in clinical trials.** Clin Cardiol 1990; 13:12-17.

Pérez de Prado A, Cuellas-Ramon C, Regueiro-Purrinos M, Gonzalo-Orden JM, Perez-Martinez C, Altonaga JR, *et al.* **Closed-chest experimental porcine model of acute myocardial infarction-reperfusion.** J Pharmacol Toxicol Methods 2009; article in press.

Pérez de Prado A, Pérez C, Cuellas C, Regueiro M, Diego A, De Miguel A, Gonzalo orden JM, Altónaga JR, Iglesias M, Ajenjo J, Martínez B, Molina M, Duocastella L, Fernández A, Merlos M, Fernández-Vázquez F. **Vascular healing response to simvastatin-stent (IRIST®) in a swine coronary model.** EuroIntervention 2009; 5:103.

Potier P, Gueritte-Voegelein F, Guenard D. **Taxoids, a new class of antitumour agents of plant origin: recent results.** Nouv Rev Fr Hematol 1994; 36:21-23.

Prenter, PM. **Splines and variational methods**”, Wiley Interscience: Nueva York, 1975

R. Nisbet, J. Elder, G. Miner, **Handbook of statistical analysis and data mining applications.** Academic Press: United States of America, 2009.

Raizner AE, Oesterle SN, Waksman R, Serruys PW, Colombo A, Lim YL, *et al.* **Inhibition of restenosis with beta-emitting radiotherapy: Report of the Proliferation Reduction with Vascular Energy Trial (PREVENT).** Circulation 2000; 102:951-958.

Revell PA, Braden M, Freeman MA. **Review of the biological response to a novel bone cement containing poly (ethyl methacrylate) and n-butyl methacrylate.** Biomaterials 1998;19:1579-1586.

Ribichini F, Steffenino G, Dellavalle A, Vado A, Ferrero V, Camilla T, *et al.* **Plasma lipoprotein (a) is not a predictor for restenosis after elective high-pressure coronary stenting.** *Circulation* 1998; 98:1172-1177.

Robinson KA, Serrys P, Stack RS, Virmani R. Results and lessons learned from unsuccessful drug-eluting stent programs: **Failure of the actinomycin D coating to inhibit in-stent restenosis despite potent biologic effects in pig coronary arteries.** In: Stone GW, Leon ML. *Textbook of coronary stenting.* WB Saunders Co: United States, 2007.

Rodriguez AE, Santaera O, Larribau M, Fernandez M, Sarmiento R, Perez B, *et al.* **Coronary stenting decreases restenosis in lesions with early loss in luminal diameter 24 hours after successful PTCA.** *Circulation* 1995; 91:1397-1402.

Roman S, Poole M, Lindeman R. **Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression and the effect of exogenous VEGF on survival of a random flap in the rat.** *Br J Plast Surg* 2004; 57:174.

Roubin GS, Douglas JS, Jr., King SB, 3rd, Lin SF, Hutchison N, Thomas RG, *et al.* **Influence of balloon size on initial success, acute complications, and restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. A prospective randomized study.** *Circulation* 1988; 78:557-565.

Rowinsky EK, Donehower RC. **Paclitaxel (taxol).** *N Engl J Med* 1995; 332:1004-1014.

Rubenstein MH, Harrell LC, Sheynberg BV, Schunkert H, Bazari H, Palacios IF. **Are patients with renal failure good candidates for percutaneous coronary revascularization in the new device era?** *Circulation* 2000 Dec 12; 102:2966-72.

Samani NJ, Martin DS, Brack M, Cullen J, Chauhan A, Lodwick D, *et al.* **Insertion/deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene and risk of restenosis after coronary angioplasty.** *Lancet* 1995; 345:1013-1016.

Santoian EC, King SB, 3rd. **Intravascular stents, intimal proliferation and restenosis.** *J Am Coll Cardiol* 1992; 19:877-879.

Sata M, Saiura A, Kunisato A, Tojo A, Okada S, Tokuhisa T, *et al.* **Hematopoietic stem cells differentiate into vascular cells that participate in the pathogenesis of atherosclerosis.** *Nat Med* 2002; 8:403-409.

San Román del Barrio. **Evaluación de la biocompatibilidad del polímero P5 con y sin simvastatina.** Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros (CSIC). Manual del investigador: anexo 6, 2005; IBERHOSPITEX S.A. Estudio IRIST.

Scheller B, Grandt A, Wnendt S, Lorenz G, Bohm M, Nickenig G. **Comparative study of tacrolimus and paclitaxel stent coating in the porcine coronary model.** *Z Kardiol* 2005; 94:445-452.

Scheller B, Speck U, Abramjuk C, Bernhardt U, Bohm M, Nickenig G. **Paclitaxel balloon coating, a novel method for prevention and therapy of restenosis.** *Circulation* 2004; 110:810-814.

Schneider PA, Ogawa DY, Rush MP. **Lower extremity revascularization without contrast arteriography: a prospective study of operation based upon duplex mapping.** *Cardiovasc Surg* 1999; 7:699-703.

Schwartz RS, Chronos NA, Virmani R. **Preclinical restenosis models and drug-eluting stents: still important, still much to learn.** *J Am Coll Cardiol* 2004; 44:1373-1385.

Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, Carter A, Granada JF, Kaluza GL, *et al.* **Drug-Eluting Stents in Preclinical Studies: Updated Consensus Recommendations for Preclinical Evaluation.** *Circ Cardiovasc Intervent* 2008; 1:143-153.

Schwartz RS, Henry TD. **Pathophysiology of coronary artery restenosis.** *Rev Cardiovasc Med* 2002; 3:4-9.

Schwartz RS, Huber KC, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, *et al.* **Restenosis and the proportional neointimal response to coronary artery injury: results in a porcine model.** *J Am Coll Cardiol* 1992; 19:267-274.

Schwartz RS, Murphy JG, Edwards WD, Camrud AR, Vlietstra RE, Holmes DR. **Restenosis after balloon angioplasty. A practical proliferative model in porcine coronary arteries.** *Circulation* 1990;82:2190-2200.

Scott NA, Cipolla GD, Ross CE, Dunn B, Martin FH, Simonet L, *et al.* **Identification of a potential role for the adventitia in vascular lesion formation after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries.** *Circulation* 1996; 93:2178-2187.

Serra-Peñaranda A, Miranda-Guardiola F, Venegas-Aravena R. **Análisis y características de los stents farmacoactivos disponibles en la actualidad.** *Rev Esp Cardiol* 2007; S:8-28.

Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, *et al.* **A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group.** *N Engl J Med* 1994; 331: 489-495.

Serruys PW, Luijten HE, Beatt KJ, Geuskens R, de Feyter PJ, van den Brand M, *et al.* **Incidence of restenosis after successful coronary angioplasty: a time-related phenomenon. A quantitative angiographic study in 342 consecutive patients at 1, 2, 3, and 4 months.** *Circulation* 1988; 77:361-371.

Serruys PW, Sianos G, Abizaid A, Aoki J, den Heijer P, Bonnier H, *et al.* **The effect of variable dose and release kinetics on neointimal hyperplasia using a novel paclitaxel-eluting stent platform: the Paclitaxel In-Stent Controlled Elution Study (PISCES).** *J Am Coll Cardiol* 2005; 46:253-260.

Serruys PW, Strauss BH, Beatt KJ, Bertrand ME, Puel J, Rickards AF, *et al.* **Angiographic follow-up after placement of a self-expanding coronary-artery stent.** *N Engl J Med* 1991; 324:13-17.

Serruys PW, Unger F, van Hout BA, van den Brand MJ, van Herwerden LA, van Es GA, *et al.* **The ARTS study (Arterial Revascularization Therapies Study)**. *Semin Interv Cardiol* 1999; 4:209-219.

Shaikh F, Maddikunta R, Djelmami-Hani M, Solis J, Allaqaband S, Bajwa T. **Stent fracture, an incidental finding or a significant marker of clinical in-stent restenosis?** *Catheter Cardiovasc Interv* 2008; 71:614-618.

Shi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. **Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries.** *Circulation* 1996; 94:1655-1664.

Shi Y, O'Brien JE, Fard A, Mannion JD, Wang D, Zalewski A. **Adventitial myofibroblasts contribute to neointimal formation in injured porcine coronary arteries.** *Circulation*. 1996; 94:1655-64.

Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, Joffre F, Kappenberger L. **Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty.** *N Engl J Med* 1987; 316:701-706.

Silva GV, Fernandes MR, Madonna R, Clubb F, Oliveira E, Jimenez-Quevedo P, Branco R, *et al.* **Comparative healing response after sirolimus- and paclitaxel-eluting stent implantation in a pig model of restenosis.** *Catheter Cardiovasc Interv*. 2009; 73:801-8.

Simon C, Palmaz JC, Sprague EA. **Influence of topography on endothelialization of stents: clues for new designs.** *J Long Term Eff Med Implants* 2000; 10:143-151.

Sinno MC, Khanal S, Al-Mallah MH, Arida M, Weaver WD. **The efficacy and safety of combination glycoprotein IIb/IIIa inhibitors and reduced-dose thrombolytic therapy-facilitated percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized clinical trials.** *Am Heart J* 2007; 153:579-586.

Sirnes PA, Golf S, Myreng Y, Molstad P, Emanuelsson H, Albertsson P, *et al.* **Stenting in Chronic Coronary Occlusion (SICCO): a randomized, controlled trial of adding stent implantation after successful angioplasty.** *J Am Coll Cardiol* 1996; 28:1444-1451.

Sirnes PA, Myreng Y, Molstad P, Golf S. **Reproducibility of quantitative coronary analysis, Assessment of variability due to frame selection, different observers, and different cinefilmless laboratories.** *Int J Card Imaging* 1996; 12:197-203.

Sollott SJ, Cheng L, Pauly RR, Jenkins GM, Monticone RE, Kuzuya M, *et al.* **Taxol inhibits neointimal smooth muscle cell accumulation after angioplasty in the rat.** *J Clin Invest* 1995; 95:1869-1876.

Soriano J, Alfonso F, Cequier A, Moris C. **The Registry of the Activities of the Hemodynamics and Interventional Cardiology Section in 1998.** *Rev Esp Cardiol* 1999; 52:1105-1120.

Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Abizaid AS, Feres F, Pinto IM, *et al.* **Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study.** *Circulation* 2001; 103:192-195.

Speck U, Scheller B, Abramjuk C, Breitwieser C, Dobberstein J, Boehm M, Hamm B. **Neointima inhibition: comparison of effectiveness of non-stent-based local drug delivery and a drug-eluting stent in porcine coronary arteries.** Radiology 2006; 240:411-8.

Stankovic G, Colombo A, Bersin R, Popma J, Sharma S, Cannon LA, *et al.* **Comparison of directional coronary atherectomy and stenting versus stenting alone for the treatment of de novo and restenotic coronary artery narrowing.** Am J Cardiol 2004; 93:953-958.

Stanley WC. **In vivo models of myocardial metabolism during ischemia: application to drug discovery and evaluation.** J Pharmacol Toxicol Methods 2000; 43:133-140.

Steen S, Liao Q, Wierup PN, Bolys R, Pierre L, Sjoberg T. **Transplantation of lungs from non-heart-beating donors after functional assessment ex vivo.** Ann Thorac Surg 2003; 76:244-252.

Steinberg, D and Colla, PL. **CART: Tree-Structured Nonparametric DataAnalysis.** CA: Salford Systems: San Diego, 1995.

Steinberg, D, Colla, PL y Martin K. **MARS User Guide.** CA: Salford Systems: San Diego, 1999

Steinwart I. **On the influence of the kernel on the consistency of support vector machines,** Journal of Machine Learning Research 2001; 2:67-93.

Stone GW, Ellis SG, Cannon L, Mann JT, Greenberg JD, Spriggs D, *et al.*
Comparison of a polymer-based paclitaxel-eluting stent with a bare metal stent in patients with complex coronary artery disease: a randomized controlled trial. JAMA 2005; 294:1215-1223.

Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, *et al.*
A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. N Engl J Med 2004; 350:221-231.

Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, *et al.*
One-year clinical results with the slow-release, polymer-based, paclitaxel-eluting TAXUS stent: the TAXUS-IV trial. Circulation 2004; 109:1942-1947.

Stone GW, Midei M, Newman W, Sanz M, Hermiller JB, Williams J, *et al.*
Comparison of an everolimus-eluting stent and a paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease: a randomized trial. Jama 2008; 299:1903-1913.

Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey LR, Llanos G, Wilensky R, *et al.*
Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. Circulation 2001; 104:1188-1193.

Swindell CS, Heerding JM, Krauss NE, Horwitz SB, Rao S, Ringel I.
Characterization of two taxol photoaffinity analogues bearing azide and benzophenone-related photoreactive substituents in the A-ring side chain. J Med Chem 1994; 37:1446-1449.

Swindell CS, Krauss NE, Horwitz SB, Ringel I. **Biologically active taxol analogues with deleted A-ring side chain substituents and variable C-2' configurations.** J Med Chem 1991; 34:1176-1184.

Swindle MM, Horneffer PJ, Gardner TJ, Gott VL, Hall TS, Stuart RS, *et al.* **Anatomic and anesthetic considerations in experimental cardiopulmonary surgery in swine.** Lab Anim Sci 1986; 36:357-361.

Swindle MM, Smith AC, Goodrich JA. **Chronic cannulation and fistulization procedures in swine: a review and recommendations.** J Invest Surg 1998; 11:7-20.

Tamai H, Katoh O, Suzuki S, Fujii K, Aizawa T, Takase S, *et al.* **Impact of tranilast on restenosis after coronary angioplasty: tranilast restenosis following angioplasty trial (TREAT).** Am Heart J 1999; 138:968-975.

Tardif JC, Cote G, Lesperance J, Bourassa M, Lambert J, Doucet S, *et al.* **Probucol and multivitamins in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. Multivitamins and Probucol Study Group.** N Engl J Med 1997; 337:365-372.

Thornton MA, Gruentzig AR, Hollman J, King SB, 3rd, Douglas JS. **Coumadin and aspirin in prevention of recurrence after transluminal coronary angioplasty: a randomized study.** Circulation 1984; 69:721-727.

Tian W, Kuhlmann MT, Pelisek J, Scobioala S, Quang TH, Hasib L, *et al.* **Paclitaxel delivered to adventitia attenuates neointima formation without compromising re-endothelialization after angioplasty in a porcine restenosis model.** *J Endovasc Ther* 2006; 13:616-629.

Topol EJ, Leya F, Pinkerton CA, Whitlow PL, Hofling B, Simonton CA, *et al.* **A comparison of directional atherectomy with coronary angioplasty in patients with coronary artery disease. The CAVEAT Study Group.** *N Engl J Med* 1993; 329:221-227.

Tsuchida K, Garcia-Garcia HM, Ong AT, Valgimigli M, Aoki J, Rademaker TA, *et al.* **Revisiting late loss and neointimal volumetric measurements in a drug-eluting stent trial: analysis from the SPIRIT FIRST trial.** *Catheter Cardiovasc Interv* 2006; 67:188-197.

Tsuchida K, Serruys PW, Bruining N, Dudek D, Drzewiecki J, Banning AP, *et al.* **Two-year serial coronary angiographic and intravascular ultrasound analysis of in-stent angiographic late lumen loss and ultrasonic neointimal volume from the TAXUS II trial.** *Am J Cardiol* 2007; 99:607-615.

Tsuji T, Tamai H, Igaki K, Kyo E, Kosuga K, Hata T, *et al.* **Biodegradable Polymeric Stents.** *Curr Interv Cardiol Rep* 2001; 3:10-17.

Van Belle E, Abolmaali K, Bauters C, McFadden EP, Lablanche JM, Bertrand ME. **Restenosis, late vessel occlusion and left ventricular function six months after balloon angioplasty in diabetic patients.** *J Am Coll Cardiol* 1999; 34:476-485.

Van Belle E, Bauters C, Bertrand ME. **Coronary angioplasty in diabetic patients. Analysis of the problems to improve results.** Arch Mal Coeur Vaiss 1999; 92:1637-1645.

van der Giessen WJ, Lincoff AM, Schwartz RS, van Beusekom HM, Serruys PW, Holmes DR, Jr., *et al.* **Marked inflammatory sequelae to implantation of biodegradable and nonbiodegradable polymers in porcine coronary arteries.** Circulation 1996; 94:1690-1697.

van der Giessen WJ, Slager CJ, van Beusekom HM, van Ingen Schenau DS, Huijts RA, Schuurbiens JC, *et al.* **Development of a polymer endovascular prosthesis and its implantation in porcine arteries.** J Interv Cardiol 1992; 5:175-185.

Vandergoten P, Brosens M, Benit E. **Coronary aneurysm five months after intracoronary beta-irradiation.** Acta Cardiol 2000; 55:313-315.

Virmani R, Farb A, Burke AP. **Coronary angioplasty from the perspective of atherosclerotic plaque: morphologic predictors of immediate success and restenosis.** Am Heart J 1994; 127:163-179.

Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, *et al.* **Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious?** Circulation 2004;109:701-705.

Virmani R, Liistro F, Stankovic G, Di Mario C, Montorfano M, Farb A, *et al.* **Mechanism of late in-stent restenosis after implantation of a paclitaxel derivate-eluting polymer stent system in humans.** *Circulation* 2002; 106:2649-2651.

Virmani R, Kolodgie FD, Farb A, Lafont A. **Drug eluting stents: are human and animal studies comparable?** *Heart* 2003; 89:133-8.

Waller BF, Pinkerton CA, Orr CM, Slack JD, VanTassel JW, Peters T. **Morphological observations late (greater than 30 days) after clinically successful coronary balloon angioplasty.** *Circulation* 1991; 83:28-41.

Webster MW, Chesebro JH, Fuster V. **Platelet inhibitor therapy. Agents and clinical implications.** *Hematol Oncol Clin North Am* 1990; 4: 265-289.

Welt FG, Rogers C. **Inflammation and restenosis in the stent era.** *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002; 22:1769-1776.

White FC, Bloor CM. **Coronary vascular remodeling and coronary resistance during chronic ischemia.** *Am J Cardiovasc Pathol* 1992; 4:193-202.

Wilson GJ, Polovick JE, Huibregtse BA, Poff BC. **Overlapping paclitaxel-eluting stents: long-term effects in a porcine coronary artery model.** *Cardiovasc Res* 2007; 76:361-372.

Wu K, Leighton JA. **Images in clinical medicine. Paclitaxel and cell division.** *N Engl J Med* 2001; 344:815.

Yang LX, Wang HJ, Holton RA. **In vitro efficacy of a novel chemoradiopotentiator--taxoltere metro.** Int J Radiat Oncol Biol Phys 2000; 46:159-163.

Yang LX, Zhu J, Wang HJ, Holton RA. **Enhanced apoptotic effects of novel paclitaxel analogs on NCI/ADR-RES breast cancer cells.** Anticancer Res 2003; 23:3295-3301.

Yang JH, Briggs WH, Libby P, Lee RT. **Small mechanical strains selectively suppress matrix metalloproteinase-1 expression by human vascular smooth muscle cells.** J Biol Chem 1998; 273:6550-5.

Yasuda K, Tomita H, Kimura K, Yagihara T, Echigo S. **Stenting pulmonary artery stenosis in an infant with tricuspid atresia: approach via the foramen ovale and ventricular septal defect using a long flexible sheath.** Pediatr Int 2002; 44:690-692.

Zimering MB, Shin JJ, Shah J, Winingern E, Engelhart C. **Validation of a Novel Risk Estimation Tool for Predicting Low Bone Density in Caucasian and African American Men Veterans.** J Clin Densitom 2007; 3: 289-297.

Zou Y, Dietrich H, Hu Y, Metzler B, Wick G, Xu Q. **Mouse model of venous bypass graft arteriosclerosis.** Am J Pathol 1998; 153:1301-1310.