

Investigación traslacional cardiovascular

Modelos preclínicos de reestenosis: retos y éxitos

Arturo G. Touchard^a y Robert S. Schwartz^{b,*}^aHospital Universitario Puerta de Hierro, Majadahonda, Madrid, España^bMinneapolis Heart Institute and Foundation, Minneapolis, Minnesota, Estados Unidos

Palabras clave:

Reestenosis
Inflamación
Trombosis
Modelo animal
Arterias coronarias

RESUMEN

La investigación sobre la aterosclerosis coronaria humana está limitada por la incapacidad de realizar experimentos totalmente controlados y por la lentitud en la progresión de las lesiones. Afortunadamente, los modelos animales de daño arterial pueden aportar resultados comparables a los de ensayos en humanos y añaden información relevante sobre la respuesta vascular a distintas noxas. Estos modelos se han convertido en armas indispensables para conocer la interacción de la arteria coronaria con los dispositivos médicos y, en especial, la génesis de la neointima. Constituyen el primer paso en el análisis de la seguridad y la eficacia de los nuevos dispositivos. Las ventajas de estos modelos son la capacidad de simulación fisiopatológica de la enfermedad, el control estricto de las variables de confusión y la posibilidad de obtener datos cuantificables en breve tiempo. Para el estudio de la reestenosis, se han usado distintos modelos animales. Esta variedad refleja la ausencia del modelo animal ideal. Cada modelo tiene sus propias ventajas y desventajas. Este artículo revisa los principales modelos animales empleados en el estudio de la reestenosis, sus características, sus ventajas y desventajas en comparación con los humanos y las consideraciones necesarias para alcanzar el modelo animal ideal y el diseño del estudio perfecto.

Preclinical Models of Restenosis: Achievements and Challenges

ABSTRACT

Research on coronary artery atherosclerosis in humans is limited by our inability to carry out controlled experiments and by the long time required for lesions to develop. Fortunately, animal models of arterial pathology can give results comparable to those obtained in clinical trials, and provide important information about vascular responses to injury. These experimental models have become indispensable to our understanding of how coronary arteries interact with medical devices, and, in particular, to our understanding of the genesis of neointima formation. The models serve as the first stage in evaluating the safety and efficacy of new devices. They have a number of advantages: disease pathophysiology can be simulated; confounding variables can be closely controlled; and quantitative data can be obtained in a short period of time. The large variety of animal models used to study restenosis reflects the lack of an ideal model. Each model has its own advantages and disadvantages. This article contains a review of the principal animal models used to investigate restenosis, their main characteristics, and their advantages and disadvantages relative to clinical models, and discusses the factors that have to be taken into account in conceiving the ideal animal model or designing the perfect study.

Keywords:

Restenosis
Inflammation
Thrombosis
Animal model
Coronary arteries

MODELOS PRECLÍNICOS DE REESTENOSIS

Los modelos más empleados en los estudios de reestenosis son los de roedores (ratas, ratones, conejos), cerdos, perros y primates. Los métodos para causar daño vascular más empleados en estos modelos son:

- Daño mecánico: sobredistensión de la arteria con balones de angioplastia no distensibles inflados a altas presiones¹, balones muy

distensibles inflados a bajas presiones para denudación endotelial², inducción de daño con lazos formados con guías de angioplastia^{3,4} o mediante aterectomía direccional.

- Daños vasculares inducidos por agentes químicos (dieta), daños eléctricos⁵, por calor⁶, desecación endoluminal por aire^{7,8} o irradiación⁹.

- Inducción de inflamación grave implantando *stents* de cobre, que inducen reacción a cuerpo extraño^{10,11}.

Para aumentar el grado de la lesión producida o reproducir las condiciones clínicas de los humanos que necesitan tratamiento con angioplastia (como la presencia de placas ateroscleróticas), distintos autores han empleado métodos complementarios de daño vascular antes o después del método principal^{12,13}. Se puede someter a los animales a dietas con alto contenido en colesterol y grasas (daño quí-

*Autor para correspondencia: Minneapolis Heart Institute and Foundation, 920 E. 28th St, Suite 300, Minneapolis, Minnesota 55407, Estados Unidos.

Correo electrónico: rss@rsschwartz.com (R.S. Schwartz).

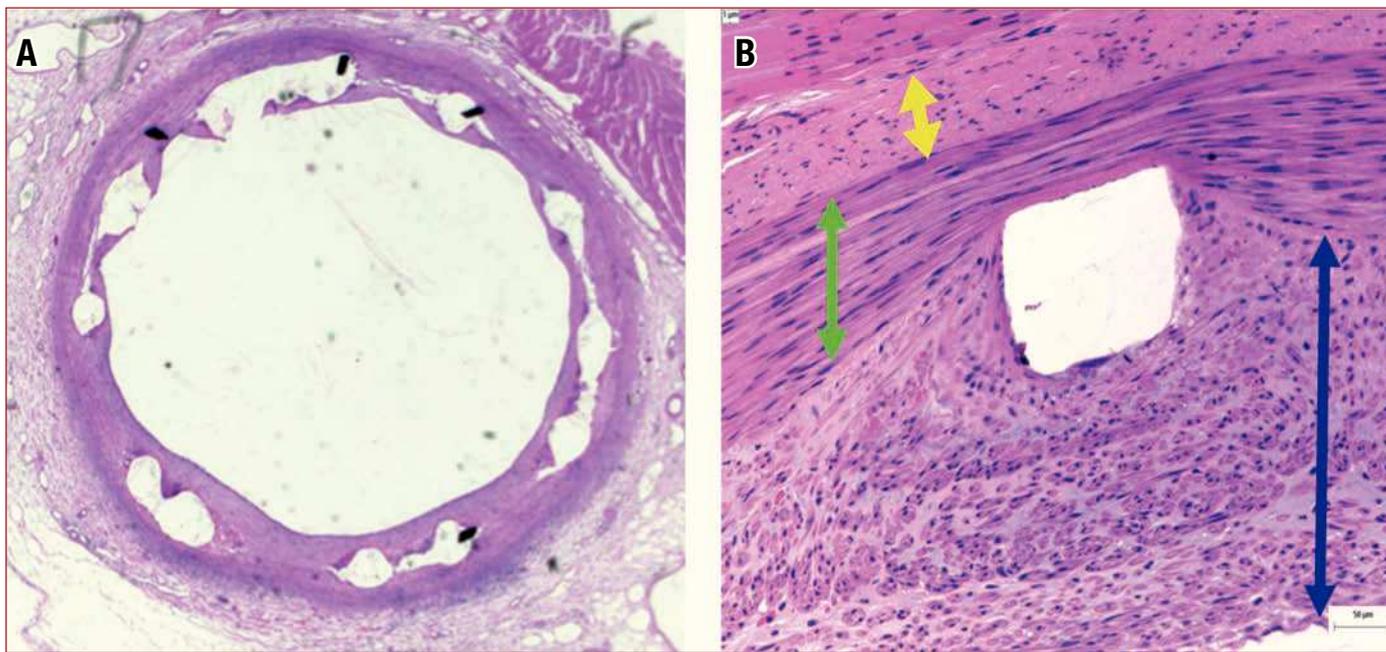


Figura 1. Tinción de hematoxilina-eosina de una arteria coronaria porcina, 1 mes tras el daño mecánico (*stent* sobredimensionado). A: daño mecánico tras el implante de un *stent*. B: respuesta neointimal (flecha azul) en relación con la capa media (flecha verde) y la adventicia (flecha amarilla).

mico) o a distintos medios de daño vascular, aisladamente o en combinación con la dieta hiperlipemiente. Esto genera modelos de doble o triple daño vascular. Sin embargo, no está totalmente demostrada la influencia que estos modelos de daño vascular múltiple tienen en los resultados finales^{14,15}.

MODELOS EXPERIMENTALES EN ROEDORES

Modelo de arteria carótida de rata

El modelo de arteria carótida de rata se ha utilizado ampliamente para comprobar el daño vascular años antes de que la técnica de angioplastia se desarrollase. Estos estudios se basaban en el daño por denudación endotelial, identificando la capa intimal como la localización clave en la respuesta proliferativa. En este modelo, se suele emplear ambas arterias carótidas en cada animal. Estas se lesionan por desecación con aire⁸ o denudación endotelial con balón muy distensible a baja presión^{16,17}. En este modelo se introduce un balón de trombectomía Fogarty de 2 Fr a través de una incisión en la arteria carótida externa hasta llegar a la arteria carótida común. Entonces se hincha el balón, que se retira a través de la arteria (aún hinchado) tres o más veces. Luego se deshincha el balón y se liga la arteria carótida externa.

Modelo de conejo hipercolesterolémico, arteria iliaca

El modelo de arteria iliaca en conejo aterosclerótico es un buen ejemplo del modelo de doble daño vascular. Aunque las lesiones observadas en este modelo difieren de las de la enfermedad humana, el modelo aporta información fundamental sobre los mecanismos de reparación después del daño vascular en una arteria enferma, así como para el análisis de tratamientos antirreestenóticos¹⁸⁻²⁵. Otros modelos de conejo han empleado métodos de daño vascular simples, dobles o incluso triples, incluyendo daño de características bioquímicas mediante dietas proaterogénicas, seguido habitualmente de daño mecánico en ambas arterias iliacas mediante balones de angioplastia²⁶⁻²⁸ o desecación por aire. A las 4-6 semanas tras la inducción del daño vascular, es frecuente encontrar lesiones ateroscleróticas incipientes a las que aplicar un nuevo método de provocación de daño vascular o el tratamiento intervencionista que se pretende analizar.

MODELOS EXPERIMENTALES EN PERROS: MÍNIMA RESPUESTA AL DAÑO VASCULAR

Varios autores han explorado el modelo canino para el estudio de la reestenosis, principalmente por su reducido tamaño, su bajo coste y su amplia disponibilidad. Sin embargo, los perros tienen una elevada actividad fibrinolítica²⁹ y un sistema de coagulación marcadamente distinto del humano³⁰. Además, los vasos caninos sufren solo una mínima reacción neointimal tras el daño vascular en comparación con otros modelos animales³¹. Por ello, el modelo canino no es el más adecuado para el estudio de la reestenosis.

MODELO PORCINO DE ARTERIAS CORONARIAS

El corazón porcino (fig. 1) es muy similar en tamaño y estructura anatómica al de los humanos³²⁻³⁴. El acceso endovascular al corazón porcino emplea catéteres y materiales habitualmente empleados en la angioplastia coronaria humana tanto para la arteria coronaria izquierda como para la derecha, lo que es una gran ventaja de este modelo. El abordaje arterial se realiza comúnmente a través de las arterias carótidas, aunque también es simple realizarlo a través de las arterias femorales. El daño mecánico mediante sobredistensión de la arteria y la denudación endotelial se han demostrado como noxas eficaces, aunque la primera induce más proliferación de células musculares lisas que la simple denudación endotelial. La sobredistensión de la arteria coronaria se puede conseguir con un balón de angioplastia sobredimensionado^{1,35} o implantando un *stent* sobredimensionado³⁶. Este modelo permite reproducir una respuesta neointimal prácticamente idéntica a la humana en cuanto a tamaño celular, densidad celular y apariencia histopatológica^{1,10,37}. Los especímenes patológicos obtenidos tras el daño exclusivamente con balón muestran laceración de la capa media simple; las muestras tras el implante de *stents* sobredimensionados muestran múltiples lesiones en la vecindad de los *struts* de los *stents*, muy similares a las observadas tras el empleo clínico en humanos³⁸.

PRIMATES NO HUMANOS

Los modelos preclínicos basados en primates no humanos comparten una total similitud filogenética con los humanos, lo que cons-

tituye una ventaja singular. Sin embargo, la secuencia temporal de la respuesta proliferativa y la actividad trombotica en las arterias coronarias no tiene tan buena relación con los fenómenos presentes en la reestenosis humana u otros modelos animales. Su limitada disponibilidad, las restricciones legales, las dudas éticas y su elevado coste hacen poco práctico este modelo animal. Pocos estudios han empleado arterias en primates para analizar la respuesta al daño vascular con balón³⁹⁻⁴¹.

DISTINTAS ESPECIES: ¿RESPUESTA ARTERIAL ESPECÍFICA AL DAÑO?

Cada especie animal tiene mecanismos de reparación molecular y celular distintos; por ello, las lesiones vasculares tras el daño inducido pueden ser totalmente distintas de una especie a otra. Los modelos de daño vascular en carótidas de rata, ratón o porcinas casi nunca provocan estenosis arteriales hemodinámicamente significativas. En los modelos de conejos hipercolesterolémicos y en las arterias coronarias porcinas, se puede observar estenosis hemodinámica y macroscópicamente significativas, pero no ocurre de forma sistemática.

La respuesta arterial al daño inducido se desarrolla típicamente en seis fases:

1. Daño arterial: denudación endotelial, fractura de la lámina elástica interna, daño de la capa media y la adventicia.
2. Agregación plaquetaria y formación de trombo.
3. Retroceso elástico.
4. Inflamación.
5. Migración de células musculares lisas, proliferación y producción de matriz extracelular⁴², componentes fundamentales del engrosamiento neointimal⁴³⁻⁴⁵.
6. Remodelado arterial.

Cada uno de estos factores individuales contribuye a la reestenosis tras la angioplastia^{46,47}. Tras el implante de *stent*, los factores esenciales en la inducción de reestenosis son el daño endotelial, la trombosis, la inflamación y la hiperplasia intimal^{48,49}. Parece que ningún modelo preclínico por sí solo reproduce totalmente todos los componentes como sucede en la clínica humana. En el diseño de los estudios y la interpretación de los resultados, se debe tener en cuenta especialmente las diferencias entre especies en la reparación vascular. Si no, los resultados obtenidos pueden causar confusión o malentendidos. El propósito de la siguiente sección es resaltar las diferencias fisiopatológicas existentes entre las distintas especies.

Grado de daño arterial: *injury score*

Todos los métodos de daño vascular comienzan con la denudación endotelial, y luego se progresa en profundidad. El grado y la susceptibilidad a daños más profundos varían entre especies. En el modelo de carótida de rata, es frecuente observar la denudación endotelial mientras permanecen intactas otras estructuras arteriales como las láminas elásticas y la capa media⁵⁰. Este grado ligero del daño contrasta con el daño en profundidad que habitualmente se observa en los modelos de iliaca de conejo y de coronarias porcinas, en los que el daño en la lámina elástica interna y las disecciones de la media son similares a lo observado tras la angioplastia coronaria en humanos.

El tipo de noxa empleado en la inducción de daño vascular es otro factor esencial en el grado de la lesión obtenida, incluso dentro del mismo modelo. Por ejemplo, el daño arterial observado en ratas tras emplear lazos con guía (denudación endotelial) es mucho menor que el obtenido mediante daño eléctrico, en el que se observan zonas necróticas que abarcan desde la íntima hasta la adventicia. El distinto grado de daño inducido podría estimular distintas fases de reparación vascular en el mismo modelo animal.

El grado de daño mecánico inducido en estos modelos experimentales puede condicionar la variabilidad observada en la producción de hiperplasia neointimal³⁸. Por ello es importante contar con un sistema de gradación del daño vascular: en el modelo porcino de arterias coronarias (fig. 2), se ha descrito la escala de *injury score*, basada en la integridad de los componentes de la pared vascular. El grado más leve de daño vascular (*injury score* = 0) representa un daño superficial de la íntima, en respuesta al cual se desarrolla una capa muy fina de neointima, como ocurre en el implante de *stents* de tamaño apropiado. Se puede observar grados de estenosis mayores a medida que la estructura metálica del *stent* fractura la lámina elástica interna (*injury score* = 1), lacera la capa media (*injury score* = 2) o la lámina elástica externa (*injury score* = 3). Se desconoce aún si la integridad de las membranas elásticas tiene alguna influencia en los aspectos biomoleculares de la formación neointimal o si solo se trata de un marcador de la gravedad del daño vascular inducido. Hay evidencias de que la lámina elástica interna puede funcionar como barrera a la difusión de macromoléculas desde la luz vascular y como base para el anclaje de células endoteliales⁵¹.

La *injury score* se puede emplear para comparar distintos estudios entre sí y valorar la respuesta a distintas terapias^{37,52,53}. Este sistema de cuantificación del daño vascular se ha demostrado útil también en el análisis de las arterias periféricas⁵⁴⁻⁵⁶.

Formación del trombo: la importancia de la respuesta trombotica y fibrinolítica

Tras la inducción de daño vascular los sistemas de coagulación y de fibrinólisis se activan. Esta respuesta es totalmente diferente entre especies^{29,30,57}, y se aprecian cantidades muy distintas de trombo mural en función del modelo animal empleado. En los modelos de carótida de rata y caninos, raramente se aprecia gran cantidad de trombo. Sin embargo, en el modelo de iliaca de conejo y de coronaria porcina, la presencia de trombos macroscópicos es frecuente. Los primates tienen sistemas hemostáticos y fibrinolíticos similares a los humanos, y se ha descrito una elevada propensión a la trombosis aguda del *stent* en los primeros 3 días tras el implante. Este fenómeno es distinto del observado en modelos porcinos, en el que hay riesgo de trombosis del *stent* solo en las primeras 6 h^{29,31}.

El trombo mural constituye un importante sustrato para la colonización por células musculares lisas provenientes de la capa media. Siguiendo este concepto, la cantidad de trombo mural podría condicionar la cantidad total de neointima desarrollada. Así, esta teoría explicaría, entre otros factores, por qué el modelo de carótida de rata y los modelos caninos no consiguen generar suficiente respuesta neointimal (y estenosis macroscópica) en comparación con la observable en modelos porcinos y de conejo. Sin embargo, son muchos los estudios que han fracasado en el intento de disminuir la reestenosis inhibiendo la formación del trombo con agentes anticoagulantes orales o intravenosos. Tampoco hay evidencia de ensayos clínicos de que los regímenes de tratamiento empleados eliminen la formación de trombo local.

Se debe tener en cuenta las diferencias en la formación de trombo mural tras la angioplastia en el diseño y la interpretación de los resultados de ensayos con agentes antitrombóticos en distintos modelos. Los modelos animales con más tendencia a la formación del trombo (como los cerdos) pueden ser más sensibles a los agentes antitrombóticos que los humanos. Esto explicaría que los agentes antitrombóticos sean efectivos en el modelo porcino pero no en la clínica humana. La literatura refleja varios ejemplos de este fenómeno con prostaciclina⁵⁸, ácido acetilsalicílico (AAS)⁵⁹, hirudina⁶⁰⁻⁶² o heparinas de bajo peso molecular⁶¹. Estos estudios se realizaron en cerdos, y demostraron distintos grados de eficacia de estas intervenciones hemostáticas en la reducción de la reestenosis; sin embargo, su traslación a la clínica humana no mostró el beneficio esperado⁶³⁻⁶⁵. No solo se debe buscar la explicación de este hallazgo en la tendencia natural a la for-

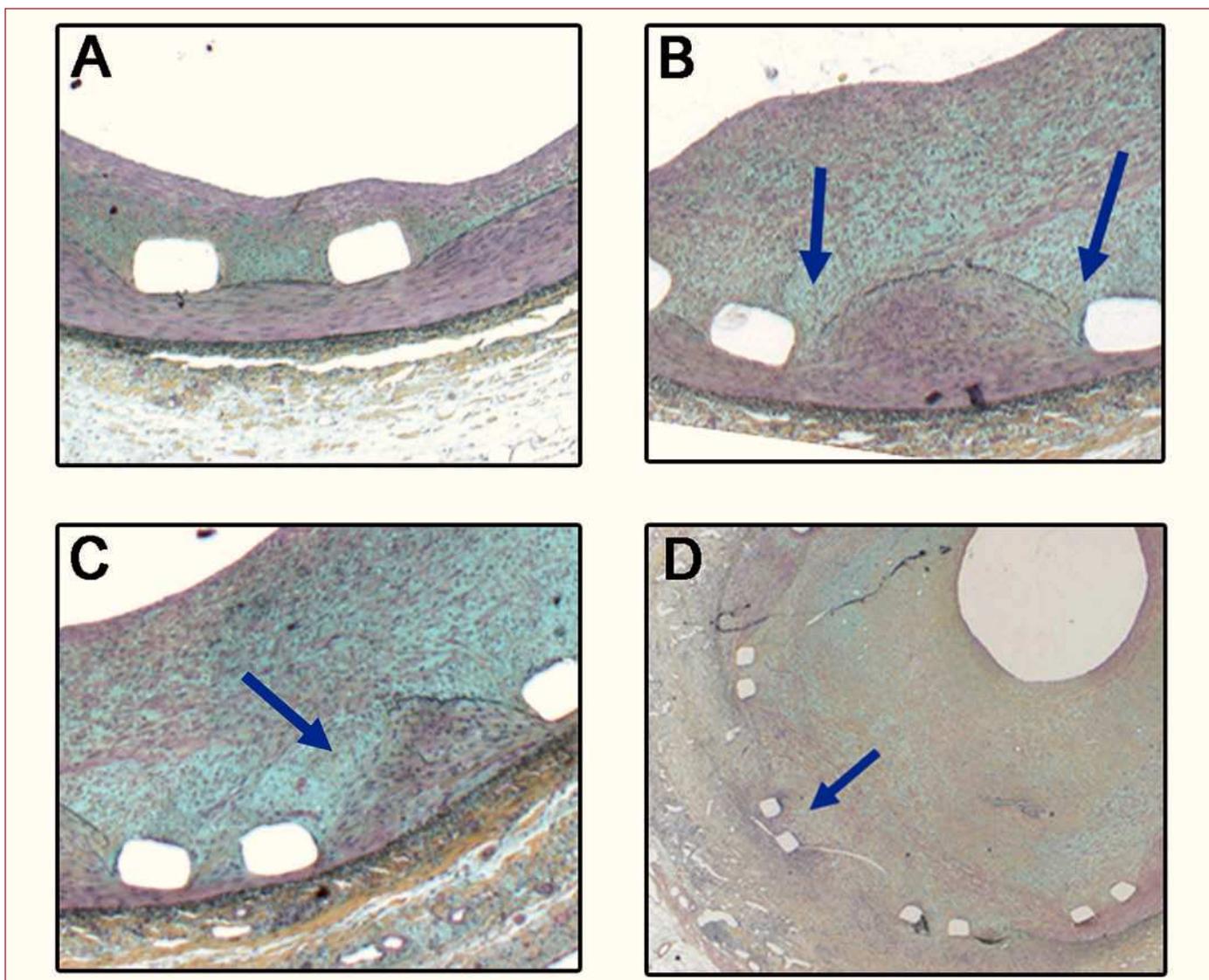


Figura 2. Gradación del daño arterial (*injury score*) en el modelo de coronarias porcinas. A: *injury score* 0, daño vascular superficial con lámina elástica interna intacta. B: *injury score* 1, fractura de la lámina elástica interna por la estructura metálica del *stent* (flechas) con capa media intacta. C: *injury score* 2, laceración de la media (flecha) sin rotura completa de esta. D: *injury score* 3, fractura de la capa media con laceración de la lámina elástica externa.

mación del trombo de los modelos porcinos, sino que también hay que analizar los objetivos de los estudios y su comparabilidad entre animales y humanos.

Inflamación

Aunque el papel de la inflamación en la reestenosis es clave, pocos estudios analizan en profundidad su contribución. Lo que es muy importante, la resolución de la inflamación es muy importante a largo plazo, puesto que puede producir una cicatriz fibrosa, con el consecuente remodelado vascular negativo. En el modelo de carótida de rata, se aprecia muy escasa respuesta inflamatoria al daño vascular. Sin embargo, los modelos de conejos hipercolesterolémicos y de coronarias porcinas muestran reacciones inflamatorias muy importantes (fig. 3), con infiltrado mononuclear precoz desde la superficie luminal y afectando a todo el trombo^{57,66}.

En el modelo porcino la inflamación tiene relación directa con el engrosamiento neointimal obtenido⁶⁷⁻⁶⁹. El estudio histopatológico de las arterias humanas tratadas con *stent* también muestra un fenómeno precoz de inflamación aguda, especialmente intenso cuando la estructura metálica produce daño de la capa media o penetración en el núcleo lipídico⁷⁰⁻⁷². Se ha correlacionado la infiltración de macrófa-

gos en tejidos obtenidos de aterectomía y la activación del sistema monocitario sanguíneo con un aumento en la tasa de reestenosis^{73,74}.

Migración y proliferación de células musculares lisas

Fueron los modelos de rata y ratón los que inicialmente demostraron el concepto de proliferación, aunque la migración y la proliferación de células musculares lisas de la media a la íntima se considera un hallazgo prominente en todos los modelos animales. Es indiscutible que el crecimiento neointimal formado por células musculares lisas causa la reestenosis del *stent*; no obstante, el papel de la proliferación celular dentro de la neointima es controvertido. La migración y la proliferación celular muestran diferencias entre especies. En ratas, ratones y cerdos, comienza precozmente tras la denudación endotelial (1-2 días) y persiste durante las 2-4 semanas siguientes, alcanzando el pico de actividad a las 2-3 semanas^{44,75}. El modelo de arterias ilíacas de conejo muestra la proliferación celular durante el mismo periodo, pero con pico de actividad a los 8 días⁷⁶. En los primates, la proliferación es máxima entre los 4 y los 7 días, y después desciende a valores basales³⁹. Todos estos modelos animales demuestran una respuesta hiperplásica al daño vascular, mientras que en la especie humana la cinética de proliferación celular no está tan bien definida.

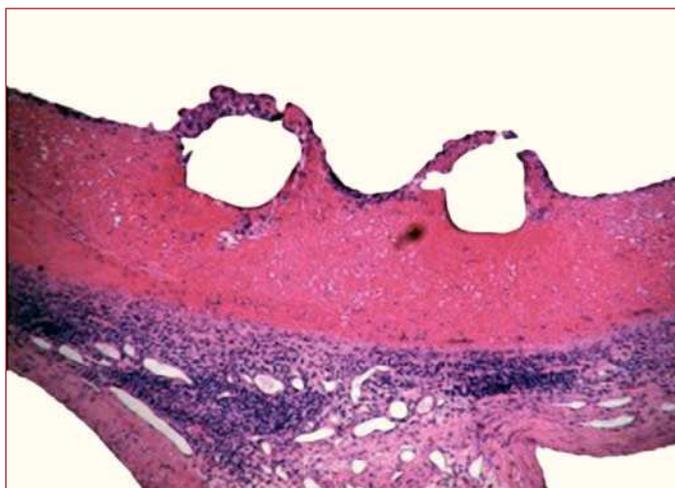


Figura 3. Ejemplo de inflamación vascular. Se aprecia una intensa infiltración inflamatoria en la capa adventicia. Un pequeño trombo organizado luminal que cubre un *strut* presenta infiltración mononuclear proveniente de la luz y penetra todo el trombo.

Las lesiones humanas muestran una respuesta hiperplásica con mucho menor contenido celular y matriz mucho más abundante que las observadas en modelos animales.

Retroceso elástico y remodelado vascular

El retroceso elástico agudo tras el deshinchado del balón y la constricción vascular tardía (remodelado vascular)⁷⁷⁻⁸⁰ es uno de los mecanismos más importantes en la producción de reestenosis en la época previa al *stent*. Los *stents* coronarios, que actúan como soporte mecánico dentro del vaso, eliminan el retroceso vascular y la pérdida general de calibre del vaso^{81,82}. Los modelos de conejo hipercolesterolémico^{83,84}, de arterias coronarias porcinas⁸⁵ y de primates no humanos¹⁹ demuestran un comportamiento de remodelado muy similar al observado en humanos⁸⁰. Las arterias de ratón tienden a dilatarse tras la angioplastia y son particularmente susceptibles al remodelado positivo^{5,86}.

Aunque el papel del retroceso vascular y el remodelado ha perdido importancia en la época del *stent*, aún se debe tener en cuenta los modelos animales propensos a remodelado positivo o negativo, puesto que se ha detectado remodelado vascular positivo tras el implante de *stents* metálicos⁸², después del tratamiento con braquiterapia tras el implante de *stent* convencional⁸¹ y tras el implante de *stents* farmacológicos^{87,88}.

PREGUNTAS VIGENTES EN MODELOS PRECLÍNICOS

La relevancia de la variabilidad de distintos factores biológicos entre especies en la aparición de reestenosis y en los valores predictivos positivos o negativos aún no está totalmente aclarada. La validez de los resultados de los modelos animales con aterosclerosis es un buen ejemplo de este interrogante. La inducción de reestenosis se puede estudiar en arterias normales o previamente dañadas. Hasta ahora, la técnica empleada más frecuentemente era el daño vascular sobre una arteria normal. La arteria normal de un animal joven, sea rata, conejo o cerdo, difiere significativamente de la arteria aterosclerótica de un paciente anciano. Las arterias de estos animales, incluso tras emplear dietas hiperlipémicas (que generan lesiones en solo unas pocas semanas, en lugar de las décadas que tardan en humanos), no son capaces de mostrar las placas característicamente humanas con fibrosis densa, contenido habitualmente acelular y con aspectos de complejidad como ulceración, calcificación, trombosis o hemorragias. El impacto de esta complejidad de las placas ateroscleróticas humanas en la reestenosis y las potenciales ventajas que modelos animales

de aterosclerosis distinta de la humana podrían presentar sobre modelos de arterias sanas son aún objeto de debate.

Otro ejemplo de líneas de investigación sin resultados definitivos es la influencia de moléculas protectoras contra la aterosclerosis (p. ej., la proteína colesterol-éster-transferasa [CETP]) en la generación de reestenosis en modelos preclínicos. Esta enzima está presente en humanos, cerdos y conejos, mientras que es deficiente en perros y roedores. Este hecho explica en parte la dificultad para producir lesiones ateromatosas en los últimos modelos^{89,90}.

CONCLUSIONES: EL MODELO IDEAL

Son muchos los artículos «catastrofistas» que hacen hincapié en el fracaso de los modelos animales para predecir los resultados en la clínica humana. Estos han generado un ambiente de desconfianza en los modelos preclínicos actualmente disponibles. Sin embargo, son estos modelos lo que ha permitido avanzar en el conocimiento del mecanismo de la reestenosis y sus potenciales dianas terapéuticas. El fracaso de los estudios animales en la predicción de la eficacia en la prevención de la reestenosis se puede atribuir a dos factores generales. Las diferencias entre especies son evidentes, si bien este factor no es fácilmente modificable excepto en los animales transgénicos. Además, hay varios factores modificables que muchas veces no se tiene en cuenta y se debe analizar y corregir para obtener el modelo animal ideal.

Actualmente no existe el modelo único ideal, aunque cada vez hay más investigación en ese campo. En la selección del modelo animal hay distintas variables que se debe tener en cuenta, basadas en las limitaciones y ventajas de cada modelo en función del propósito específico del estudio (p. ej., trombosis frente a migración celular). Teniendo en cuenta todos los datos analizados en este artículo, más que un «modelo ideal», debemos considerar en cada situación individual el «estudio ideal». Para conseguir un estudio ideal se debe tener en cuenta distintos factores:

1. Estudios de patogenia, respuesta arterial al daño vascular: son válidos distintos modelos animales. Puesto que este modelo sirve para generar hipótesis y analizar posteriormente estrategias terapéuticas, es suficiente con detectar mínimos cambios arteriales. La confirmación de las hipótesis debe realizarse en modelos animales que demuestren buenos valores predictivos, como el modelo de coronarias porcinas.

2. Estudios de seguridad: de nuevo, se debe considerar las diferencias fisiopatológicas entre especies antes de analizar qué tipo de arteria, dispositivo, dosis y fármaco, etc., se quiere emplear. En este caso es fundamental emplear modelos lo más semejantes al empleo clínico, el implante de *stent* coronario. Por ello, no todos los modelos animales serán válidos en este caso.

3. Estudios de eficacia: el parámetro fundamental en estos estudios, además de la seguridad, es la cantidad de hiperplasia neointimal inducida. Los modelos que desarrollan más hiperplasia neointimal son los mejores en este caso. Es esencial analizar la respuesta histológica en distintos momentos, como en los humanos.

Hasta la fecha, considerando todas las variables descritas, el modelo de arterias coronarias porcinas sometidas a sobredistensión parece el más semejante al escenario clínico humano debido a las similitudes en anatomía, fisiología y fisiopatología coronarias. Además, permite emplear los mismos dispositivos que en humanos, y se obtiene la neointima más proliferativa en respuesta al daño vascular de todos los modelos animales.

Los modelos animales continuarán aportando información sobre reestenosis y ayudando en la selección de las mejores terapias para tratarla. Sin embargo, debemos mejorar la elaboración de modelos animales para proporcionar información adicional sobre los mecanismos y los potenciales tratamientos efectivos que después se pueda aplicar en la clínica humana.

CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

BIBLIOGRAFÍA

- 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;82:2190-200.
- Rogers C, Karnovsky MJ, Edelman ER. Inhibition of experimental neointimal hyperplasia and thrombosis depends on the type of vascular injury and the site of drug administration. *Circulation*. 1993;88:1215-21.
- Reidy MA, Schwartz SM. Endothelial regeneration. III. Time course of intimal changes after small defined injury to rat aortic endothelium. *Lab Invest*. 1981;44:301-8.
- Lindner V, Reidy MA. Expression of VEGF receptors in arteries after endothelial injury and lack of increased endothelial regrowth in response to VEGF. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16:1399-405.
- Carmeliet P, Moons L, Stassen JM, De Mol M, Bouche A, Van den Oord JJ, et al. Vascular wound healing and neointima formation induced by perivascular electric injury in mice. *Am J Pathol*. 1997;150:761-76.
- Douek PC, Correa R, Neville R, Unger EF, Shou M, Banai S, et al. Dose-dependent smooth muscle cell proliferation induced by thermal injury with pulsed infrared lasers. *Circulation*. 1992;86:1249-56.
- Fishman JA, Ryan GB, Karnovsky MJ. Endothelial regeneration in the rat carotid artery and the significance of endothelial denudation in the pathogenesis of myointimal thickening. *Lab Invest*. 1975;32:339-51.
- Sarembock IJ, Gertz SD, Thome LM, McCoy KW, Ragosta M, Powers ER, et al. Effectiveness of hirulog in reducing restenosis after balloon angioplasty of atherosclerotic femoral arteries in rabbits. *J Vasc Res*. 1996;33:308-14.
- Fajardo LF, Berthrong M. Vascular lesions following radiation. *Pathol Annu*. 1988;23 Pt 1:297-330.
- 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;19:267-74.
- Staab ME, Meeker DK, Edwards WD, Camrud AR, Jorgenson MA, Camrud LJ, et al. Reliable models of severe coronary stenosis in porcine coronary arteries: lesion induction by high temperature or copper stent. *J Intervent Cardiol*. 1997;10:61-9.
- Llano R, Winsor-Hines D, Patel DB, Seifert PS, Hamamdzcic D, Wilson GJ, et al. Vascular responses to drug-eluting and bare metal stents in diabetic/hypercholesterolemic and nonatherosclerotic porcine coronary arteries. *Circ Cardiovasc Interv*. 2011;4:438-46.
- Granada JF, Kaluza GL, Wilensky RL, Biedermann BC, Schwartz RS, Falk E. Porcine models of coronary atherosclerosis and vulnerable plaque for imaging and interventional research. *EuroIntervention*. 2009;5:140-8.
- Schwartz RS, Edelman ER, Carter A, Chronos N, Rogers C, Robinson KA, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: recommended evaluation from a consensus group. *Circulation*. 2002;106:1867-73.
- 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 Interv*. 2008;1:143-53.
- Clowes AW, Schwartz SM. Significance of quiescent smooth muscle migration in the injured rat carotid artery. *Circ Res*. 1985;56:139-45.
- Au YP, Kenagy RD, Clowes AW. Heparin selectively inhibits the transcription of tissue-type plasminogen activator in primate arterial smooth muscle cells during mitogenesis. *J Biol Chem*. 1992;267:3438-44.
- Baumbach A, Oberhoff M, Bohnet A, Miljak T, Herdeg C, Horch B, et al. Efficacy of low-molecular-weight heparin delivery with the Dispatch catheter following balloon angioplasty in the rabbit iliac artery. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1997;41:303-7.
- Coats WD Jr, Currier JW, Faxon DP. Remodelling and restenosis: insights from animal studies. *Semin Interv Cardiol*. 1997;2:153-8.
- Hansen DD, Auth DC, Vracko R, Ritchie JL. Rotational atherectomy in atherosclerotic rabbit iliac arteries. *Am Heart J*. 1988;115:160-5.
- Jenkins RD, Sinclair IN, Leonard BM, Sandor T, Schoen FJ, Spears JR. Laser balloon angioplasty versus balloon angioplasty in normal rabbit iliac arteries. *Lasers Surg Med*. 1989;9:237-47.
- Kalinowski M, Alfke H, Bergen S, Klose KJ, Barry JJ, Wagner HJ. Comparative trial of local pharmacotherapy with L-arginine, r-hirudin, and molsidomine to reduce restenosis after balloon angioplasty of stenotic rabbit iliac arteries. *Radiology*. 2001;219:716-23.
- Kanamasa K, Otani N, Ishida N, Inoue Y, Ikeda A, Morii H, et al. Suppression of cell proliferation by tissue plasminogen activator during the early phase after balloon injury minimizes intimal hyperplasia in hypercholesterolemic rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2001;37:155-62.
- Welt FG, Edelman ER, Simon DI, Rogers C. Neutrophil, not macrophage, infiltration precedes neointimal thickening in balloon-injured arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:2553-8.
- Zou J, Huang Y, Cao K, Yang G, Yin H, Len J, et al. Effect of resveratrol on intimal hyperplasia after endothelial denudation in an experimental rabbit model. *Life Sci*. 2000;68:153-63.
- Joner M, Morimoto K, Kasukawa H, Steigerwald K, Merl S, Nakazawa G, et al. Site-specific targeting of nanoparticle prednisolone reduces in-stent restenosis in a rabbit model of established atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:1960-6.
- Ribichini F, Joner M, Ferrero V, Finn AV, Crimmins J, Nakazawa G, et al. Effects of oral prednisone after stenting in a rabbit model of established atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:176-85.
- Joner M, Farb A, Cheng Q, Finn AV, Acampado E, Burke AP, et al. Pioglitazone inhibits in-stent restenosis in atherosclerotic rabbits by targeting transforming growth factor-beta and MCP-1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2007;27:182-9.
- Mason RG, Read MS. Some species differences in fibrinolysis and blood coagulation. *J Biomed Mater Res*. 1971;5:121-8.
- Kirschstein W, Simianer S, Dempfle CE, Keller H, Stegaru B, Rentrop P, et al. Impaired fibrinolytic capacity and tissue plasminogen activator release in patients with restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA). *Thromb Haemost*. 1989;62:772-5.
- Schwartz RS, Holmes DR. Pigs, dogs, baboons, and man: lessons for stenting from animal studies. *J Interv Cardiol*. 1994;7:355-68.
- Ali MN, Mazur W, Kleiman NS, Rodgers GP, Abukhalil JM, French BA, et al. Inhibition of coronary restenosis by antithrombin III in atherosclerotic swine. *Coron Artery Dis*. 1996;7:851-61.
- Schwartz RS, Edwards WD, Huber KC, Antoniades LC, Bailey KR, Camrud AR, et al. Coronary restenosis: prospects for solution and new perspectives from a porcine model. *Mayo Clin Proc*. 1993;68:54-62.
- Schwartz RS, Topol EJ, Serruys PW, Sangiorgi G, Holmes DR Jr. Artery size, neointima, and remodeling: time for some standards. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:2087-94.
- Heras M, Chesebro JH, Penny WJ, Bailey KR, Badimon L, Fuster V. Effects of thrombin inhibition on the development of acute platelet-thrombus deposition during angioplasty in pigs. Heparin versus recombinant hirudin, a specific thrombin inhibitor. *Circulation*. 1989;79:657-65.
- McKenna CJ, Burke SE, Oppenorth TJ, Padley RJ, Camrud LJ, Camrud AR, et al. Selective ET(A) receptor antagonism reduces neointimal hyperplasia in a porcine coronary stent model. *Circulation*. 1998;97:2551-6.
- Schwartz RS, Edwards WD, Bailey KR, Camrud AR, Jorgenson MA, Holmes DR Jr. Differential neointimal response to coronary artery injury in pigs and dogs. Implications for restenosis models. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:395-400.
- Diego A, Pérez de Prado A, Cuellas C, Pérez-Martínez C, Gonzalo-Orden M, Altonaga JR, et al. La reestenosis en el *stent* depende del daño vascular inducido. ¿Son válidos los modelos experimentales actuales de análisis de los *stents* farmacocativos? *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:745-51.
- Geary RL, Williams JK, Golden D, Brown DG, Benjamin ME, Adams MR. Time course of cellular proliferation, intimal hyperplasia, and remodeling following angioplasty in monkeys with established atherosclerosis. A nonhuman primate model of restenosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1996;16:34-43.
- Hanson SR, Powell JS, Dodson T, Lumsden A, Kelly AB, Anderson JS, et al. Effects of angiotensin converting enzyme inhibition with cilazapril on intimal hyperplasia in injured arteries and vascular grafts in the baboon. *Hypertension*. 1991;18:170-6.
- Mondy JS, Williams JK, Adams MR, Dean RH, Geary RL. Structural determinants of lumen narrowing after angioplasty in atherosclerotic nonhuman primates. *J Vasc Surg*. 1997;26:875-83.
- Clowes AW, Clowes MM, Fingerle J, Reidy MA. Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. V. Role of acute distension in the induction of smooth muscle proliferation. *Lab Invest*. 1989;60:360-4.
- Casscells W. Migration of smooth muscle and endothelial cells: critical events in restenosis. *Circulation*. 1992;86:723-9.
- Fingerle J, Johnson R, Clowes A, Majesky M, Reidy M. Role of platelets in smooth muscle cell proliferation and migration after vascular injury in rat carotid artery. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989;86:8412-6.
- Hanke H, Strohschneider T, Oberhoff M, Betz E, Karsch KR. Time course of smooth muscle cell proliferation in the intima and media of arteries following experimental angioplasty. *Circ Res*. 1990;67:651-9.
- Faxon DP. Effect of high dose angiotensin-converting enzyme inhibition on restenosis: final results of the MARCATOR Study, a multicenter, double-blind, placebo-controlled trial of cilazapril. The Multicenter American Research Trial With Cilazapril After Angioplasty to Prevent Transluminal Coronary Obstruction and Restenosis (MARCATOR) Study Group. *J Am Coll Cardiol*. 1995;25:362-9.
- Landzberg BR, Frishman WH, Lerrick K. Pathophysiology and pharmacological approaches for prevention of coronary artery restenosis following coronary artery balloon angioplasty and related procedures. *Prog Cardiovasc Dis*. 1997;39:361-98.
- Braun-Dullaeus RC, Mann MJ, Dzau VJ. Cell cycle progression: new therapeutic target for vascular proliferative disease. *Circulation*. 1998;98:82-9.
- Gershlick AH, Baron J. Dealing with in-stent restenosis. *Heart*. 1998;79:319-23.
- Lindner V, Reidy MA, Fingerle J. Regrowth of arterial endothelium. Denudation with minimal trauma leads to complete endothelial cell regrowth. *Lab Invest*. 1989;61:556-63.
- Sims FH. A comparison of structural features of the walls of coronary arteries from 10 different species. *Pathology*. 1989;21:115-24.
- Schwartz RS, Holder DJ, Holmes DR, Veinot JP, Camrud AR, Jorgenson MA, et al. Neointimal thickening after severe coronary artery injury is limited by a short-term administration of a factor Xa inhibitor. Results in a porcine model. *Circulation*. 1996;93:1542-8.
- Huber KC, Schwartz RS, Edwards WD, Camrud AR, Bailey KR, Jorgenson MA, et al. Effects of angiotensin converting enzyme inhibition on neointimal proliferation in a porcine coronary injury model. *Am Heart J*. 1993;125:695-701.
- Yang ZY, Simari RD, Perkins ND, San H, Gordon D, Nabel GJ, et al. Role of the p21 cyclin-dependent kinase inhibitor in limiting intimal cell proliferation in response to arterial injury. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1996;93:7905-10.
- Schwartz RS, Chu A, Edwards WD, Srivatsa SS, Simari RD, Isner JM, et al. A proliferation analysis of arterial neointimal hyperplasia: lessons for antiproliferative restenosis therapies. *Int J Cardiol*. 1996;53:71-80.

56. Kullo IJ, Simari RD, Schwartz RS. Vascular gene transfer: from bench to bedside. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:196-207.
57. Schwartz RS, Holmes DR Jr, Topol EJ. The restenosis paradigm revisited: an alternative proposal for cellular mechanisms. *J Am Coll Cardiol.* 1992;20:1284-93.
58. 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;108:788-94.
59. Clopath P. The effect of acetylsalicylic acid (ASA) on the development of atherosclerotic lesions in miniature swine. *Br J Exp Pathol.* 1980;61:440-3.
60. Abendschein DR, Recchia D, Meng YY, Oltrona L, Wickline SA, Eisenberg PR. Inhibition of thrombin attenuates stenosis after arterial injury in minipigs. *J Am Coll Cardiol.* 1996;28:1849-55.
61. Buchwald AB, Unterberg C, Nebendahl K, Grone HJ, Wiegand V. Low-molecular-weight heparin reduces neointimal proliferation after coronary stent implantation in hypercholesterolemic minipigs. *Circulation.* 1992;86:531-7.
62. Gallo R, Padurean A, Toschi V, Bichler J, Fallon JT, Chesebro JH, et al. Prolonged thrombin inhibition reduces restenosis after balloon angioplasty in porcine coronary arteries. *Circulation.* 1998;97:581-8.
63. Bittl JA, Strony J, Brinker JA, Ahmed WH, Meckel CR, Chaitman BR, et al. Treatment with bivalirudin (Hirulog) as compared with heparin during coronary angioplasty for unstable or postinfarction angina. Hirulog Angioplasty Study Investigators. *N Engl J Med.* 1995;333:764-9.
64. Johnson GJ, Griggs TR, Badimon L. The utility of animal models in the preclinical study of interventions to prevent human coronary artery restenosis: analysis and recommendations. On behalf of the Subcommittee on Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost.* 1999;81:835-43.
65. Serruys PW, Herrman JP, Simon R, Rutsch W, Bode C, Laarman GJ, et al. A comparison of hirudin with heparin in the prevention of restenosis after coronary angioplasty. *Helvetica Investigators.* *N Engl J Med.* 1995;333:757-63.
66. Miyauchi K, Aikawa M, Tani T, Nakahara K, Kawai S, Nagai R, et al. Effect of probucol on smooth muscle cell proliferation and dedifferentiation after vascular injury in rabbits: possible role of PDGF. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1998;12:251-60.
67. 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;31:224-30.
68. Inoue T, Croce K, Morooka T, Sakuma M, Node K, Simon DI. Vascular inflammation and repair implications for re-endothelialization, restenosis, and stent thrombosis. *JACC Cardiovasc Interv.* 2011;4:1057-66.
69. Wilson GJ, Nakazawa G, Schwartz RS, Huibregtse B, Poff B, Herbst TJ, et al. Comparison of inflammatory response after implantation of sirolimus- and paclitaxel-eluting stents in porcine coronary arteries. *Circulation.* 2009;120:141-9.
70. 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.
71. Grewe PH, Deneke T, Machraoui A, Barmeyer J, Muller KM. Acute and chronic tissue response to coronary stent implantation: pathologic findings in human specimen. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35:157-63.
72. Komatsu R, Ueda M, Naruko T, Kojima A, Becker AE. Neointimal tissue response at sites of coronary stenting in humans: macroscopic, histological, and immunohistochemical analyses. *Circulation.* 1998;98:224-33.
73. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, Newell JB, Fuster V, Fallon JT. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture. *Circulation.* 1994;90:775-8.
74. Pietersma A, Kofflard M, De Wit LE, Stijnen T, Koster JF, Serruys PW, et al. Late lumen loss after coronary angioplasty is associated with the activation status of circulating phagocytes before treatment. *Circulation.* 1995;91:1320-5.
75. Zempo N, Koyama N, Kenagy RD, Lea HJ, Clowes AW. Regulation of vascular smooth muscle cell migration and proliferation in vitro and in injured rat arteries by a synthetic matrix metalloproteinase inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996;16:28-33.
76. Stadius ML, Gown AM, Kernoff R, Collins CL. Cell proliferation after balloon injury of iliac arteries in the cholesterol-fed New Zealand White rabbit. *Arterioscler Thromb.* 1994;14:727-33.
77. Bauters C, Isner JM. The biology of restenosis. *Prog Cardiovasc Dis.* 1997;40:107-16.
78. Lafont A, Guzman LA, Whitlow PL, Goormastic M, Cornhill JF, Chisolm GM. Restenosis after experimental angioplasty. Intimal, medial, and adventitial changes associated with constrictive remodeling. *Circ Res.* 1995;76:996-1002.
79. Mintz GS, Popma JJ, Hong MK, Pichard AD, Kent KM, Satler LF, et al. Intravascular ultrasound to discern device-specific effects and mechanisms of restenosis. *Am J Cardiol.* 1996;78:18-22.
80. Schwartz RS. Pathophysiology of restenosis: interaction of thrombosis, hyperplasia, and/or remodeling. *Am J Cardiol.* 1998;81:E14-7.
81. Kay IP, Sabate M, Costa MA, Kozuma K, Albertal M, Van der Giessen WJ, et al. Positive geometric vascular remodeling is seen after catheter-based radiation followed by conventional stent implantation but not after radioactive stent implantation. *Circulation.* 2000;102:1434-9.
82. Shah VM, Mintz GS, Apple S, Weissman NJ. Background incidence of late malapposition after bare-metal stent implantation. *Circulation.* 2002;106:1753-5.
83. Kakuta T, Usui M, Coats WD Jr, Currier JW, Numano F, Faxon DP. Arterial remodeling at the reference site after angioplasty in the atherosclerotic rabbit model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:47-51.
84. Kalef-Ezra J, Michalis LK, Malamou-Mitsi V, Tsekeris P, Katsouras C, Boziari A, et al. External beam irradiation in angioplasted arteries of hypercholesterolemic rabbits. The dose and time effect. *Cardiovasc Radiat Med.* 2002;3:20-5.
85. Waksman R, Rodriguez JC, Robinson KA, Cipolla GD, Crocker IR, Scott NA, et al. Effect of intravascular irradiation on cell proliferation, apoptosis, and vascular remodeling after balloon overstretch injury of porcine coronary arteries. *Circulation.* 1997;96:1944-52.
86. De Smet BJ, Pasterkamp G, Van der Helm YJ, Borst C, Post MJ. The relation between de novo atherosclerosis remodeling and angioplasty-induced remodeling in an atherosclerotic Yucatan micropig model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998;18:702-7.
87. Alviar CL, Tellez A, Wallace-Bradley D, Lopez-Berestein G, Sanguino A, Schulz DG, et al. Impact of adventitial neovascularisation on atherosclerotic plaque composition and vascular remodelling in a porcine model of coronary atherosclerosis. *EuroIntervention.* 2010;5:981-8.
88. De la Torre Hernandez JM. Late acquired incomplete stent apposition: incidence, mechanisms and clinical implications. *EuroIntervention.* 2009;5 Suppl D: D112-20.
89. Narayanaswamy M, Wright KC, Kandarpa K. Animal models for atherosclerosis, restenosis, and endovascular graft research. *J Vasc Interv Radiol.* 2000;11:5-17.
90. Tall AR. Plasma lipid transfer proteins. *J Lipid Res.* 1986;27:361-7.