

Artículo original

Seguridad y eficacia de nuevos modelos de *stents* liberadores de sirolimus con polímero biodegradable en el modelo preclínico

Armando Pérez de Prado^{a,*}, Claudia Pérez Martínez^a, Carlos Cuellas Ramón^a, Marta Regueiro Purriños^a, María López Benito^a, José Manuel Gonzalo Orden^a, José Antonio Rodríguez Altónaga^a, Rodrigo Estévez Loureiro^a, Tomás Benito González^a, David Viñuela Baragaño^a, María Molina Crisol^b, Marc Amorós Aguilar^b, Isabel Pérez Serranos^b, Arnau Vidal Parreu^b, Ana Benavides Montegordo^b, Luis Duocastella Codina^b y Felipe Fernández Vázquez^a

^a Grupo Cardiovascular (HemoLeon), Fundación Investigación Sanitaria en León y del Instituto de Biomedicina (IBIOMED), Universidad de León, Hospital Universitario de León, León, España

^b Life Vascular Devices (LVD) Biotech, iVascular, Barcelona, España

Historia del artículo:

Recibido el 12 de noviembre de 2016

Aceptado el 28 de febrero de 2017

On-line el 14 de abril de 2017

Palabras clave:

Modelo preclínico
Stent farmacológico
Reestenosis
Reparación vascular

RESUMEN

Introducción y objetivos: Los nuevos *stents* farmacológicos (SFA), diseñados para solventar las limitaciones de los existentes, han de someterse inicialmente al análisis preclínico. El objetivo es analizar la eficacia y la seguridad de nuevos SFA con polímero biodegradable en comparación con *stents* convencionales (SC) y SFA comercializados en el modelo de arteria coronaria sana porcina.

Métodos: Se implantaron aleatoriamente 101 *stents* (SC y *stents* liberadores de sirolimus con polímero biodegradable: 3 formulaciones test [BD1, BD2 y BD3], Orsiro, Biomime y Biomatrix) en las arterias coronarias de 34 cerdos domésticos. Se completó estudio angiográfico e histomorfométrico al mes (n = 83) y a los 3 meses (n = 18).

Resultados: Los *stents* se implantaron en proporción *stent*/arteria de $1,31 \pm 0,21$, sin diferencias entre grupos. Al mes, los nuevos *stents* (BD1, BD2 y BD3) mostraron menos pérdida tardía y reestenosis angiográfica, así como menor área neointimal y reestenosis histológica ($p < 0,0005$) que los SC. No se observaron diferencias significativas entre los nuevos *stents* y los SC en endotelización, daño vascular o inflamación; solo se encontró mayor persistencia de fibrina en los nuevos ($p = 0,0006$). A los 3 meses, todas estas diferencias desaparecieron, excepto una menor área neointimal con el nuevo *stent* BD1 ($p = 0,027$). No hubo diferencias en ningún parámetro al mes ni a los 3 meses entre los nuevos *stents* y los comercializados.

Conclusiones: En este modelo preclínico, los nuevos SFA con polímero biodegradable estudiados presentan menos reestenosis que los SC, sin diferencias significativas en seguridad y eficacia respecto a SFA comercializados.

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Safety and Efficacy of New Biodegradable Polymer-based Sirolimus-Eluting Stents in a Preclinical Model

ABSTRACT

Introduction and objectives: New drug-eluting stents (DES) designed to overcome the limitations of existing devices should initially be tested in preclinical studies. Our objective was to analyze the safety and efficacy of new biodegradable polymer-based DES compared with bare-metal stents (BMS) and commercially available DES in a model of normal porcine coronary arteries.

Methods: We randomly implanted 101 stents (BMS and biodegradable polymer-based sirolimus-eluting stents: 3 test stent iterations [BD1, BD2, and BD3], Orsiro, Biomime and Biomatrix) in the coronary arteries of 34 domestic pigs. Angiographic and histomorphometric studies were conducted 1 month (n = 83) and 3 months (n = 18) later.

Results: The stents were implanted at a stent/artery ratio of 1.31 ± 0.21 , with no significant differences between groups. At 1 month, the new test stents (BD1, BD2 and BD3) showed less late loss and angiographic restenosis, as well as lower histologic restenosis and neointimal area ($P < .0005$), than the BMS. There were no differences in endothelialization, vascular injury, or inflammation between the new test stents and BMS, although the new stents showed higher fibrin deposition ($P = .0006$). At 3 months, all these differences disappeared, except for a lower neointimal area with the new BD1 stent ($P = .027$). No differences at any time point were observed between the new test stents and commercially available controls.

Keywords:

Preclinical model
Drug-eluting stent
Restenosis
Vascular healing

* Autor para correspondencia: Servicio de Cardiología Intervencionista, Hospital Universitario de León, Altos de Nava s/n, 24008 León, España.
Correo electrónico: aperez@secardiologia.es (A. Pérez de Prado).

Conclusions: In this preclinical model, the new biodegradable polymer-based DES studied showed less restenosis than BMS and no significant differences in safety or efficacy vs commercially available DES.

Full English text available from: www.revespcardiol.org/en

© 2017 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Abreviaturas

DLM: diámetro luminal mínimo
SC: *stent* convencional
SFA: *stent* farmacológico

INTRODUCCIÓN

Los *stents* farmacológicos (SFA) han demostrado de manera consistente menores tasas de revascularización que los *stents* convencionales (SC) en un amplio abanico de situaciones clínicas¹ y así se ha extendido su uso, superándose con creces al número de SC en España². El riesgo de trombosis tardía de los SFA de primera generación constituyó un serio motivo de preocupación³. Este fenómeno se ha relacionado con el efecto deletéreo del fármaco, el polímero transportador, la plataforma del *stent* o con una combinación de ellos en la pared del vaso; lo cual conduce a endotelización incompleta y reacciones de hipersensibilidad e inflamatorias persistentes⁴⁻⁸.

Los SFA de nueva generación han demostrado una tasa mucho menor de trombosis tardía^{9,10}, probablemente relacionada con la mejora en los polímeros empleados. La aplicación de polímeros biodegradables ha demostrado su excelente perfil de seguridad en estudios preclínicos^{11,12} y clínicos¹³⁻¹⁵. Aunque estos avances han sido muy relevantes, aún persisten fenómenos indeseables, como la aparición de neoaterosclerosis¹⁶, que estimulan el desarrollo de nuevos dispositivos que permitan eliminar todas las limitaciones.

Los modelos preclínicos se han mostrado de gran utilidad a la hora de analizar diferencias entre nuevos dispositivos; puesto que la secuencia de los eventos biológicos asociados con la reparación arterial es similar a la de los seres humanos¹⁷. El modelo porcino de arteria coronaria sana se recomienda por consenso para evaluar las respuestas biológicas tras el uso de dispositivos coronarios¹⁸⁻²¹.

El propósito de este estudio es evaluar la seguridad y la eficacia de 3 nuevos diseños de *stents* de polímero biodegradable liberadores de sirolimus en el modelo preclínico porcino.

MÉTODOS

Modelo animal

En este estudio experimental aleatorizado, controlado y con análisis final ciego, se han usado 34 cerdos domésticos *Large White* de 2-3 meses de edad. Todos los procedimientos se realizaron de acuerdo con la regulación legal nacional (Real Decreto 53/2013, del 1 de febrero, sobre estándares básicos para la protección de animales de experimentación) y la Directiva Europea 2010/63/EC. El comité ético local aprobó el estudio antes de su inicio. El método de aleatorización fue el de asignación estratificada por arterias coronarias mayores, de modo que se implantase cada tipo de *stent* en igual número de arterias. Los plazos de seguimiento predefinidos fueron de 1 mes (n = 28) y 3 meses (n = 6).

Se administró ácido acetilsalicílico (325 mg) y clopidogrel (300 mg) 24 h antes del procedimiento. El protocolo anestésico y la preparación quirúrgica se han descrito previamente^{18,19}. Se

administró tratamiento anticoagulante con 5.000 UI de heparina no fraccionada. Para implantar los dispositivos con una relación *stent*/arteria > 1,2, se seleccionó la mejor localización dentro de las 3 arterias coronarias epicárdicas tras administrar nitroglicerina intracoronaria.

Dispositivos analizados

En este estudio se utilizaron los siguientes dispositivos:

- SC control (n = 27): *stent* metálico convencional (iVascular), de aleación de cromo-cobalto L605 y grosor de *strut* de 80 μm . La estructura del *stent* está formada por 8 coronas unidas por 3 filas de conectores no concatenados que forman una estructura sinusoidal discontinua; lo que permite una mejor distribución del fármaco.
- SFA1, BD1 (n = 32): basado en el SC, recubierto abluminalmente de polímero biodegradable poli(D,L)-láctico-co-glicólico, con espesor de 4-5 μm y cargado con 1,0 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus con un sistema de liberación que permite que más del 60% del fármaco se libere en 30 días (figura 1).
- SFA2, BD2 (n = 6): una variante de SFA1 con 1,4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus.

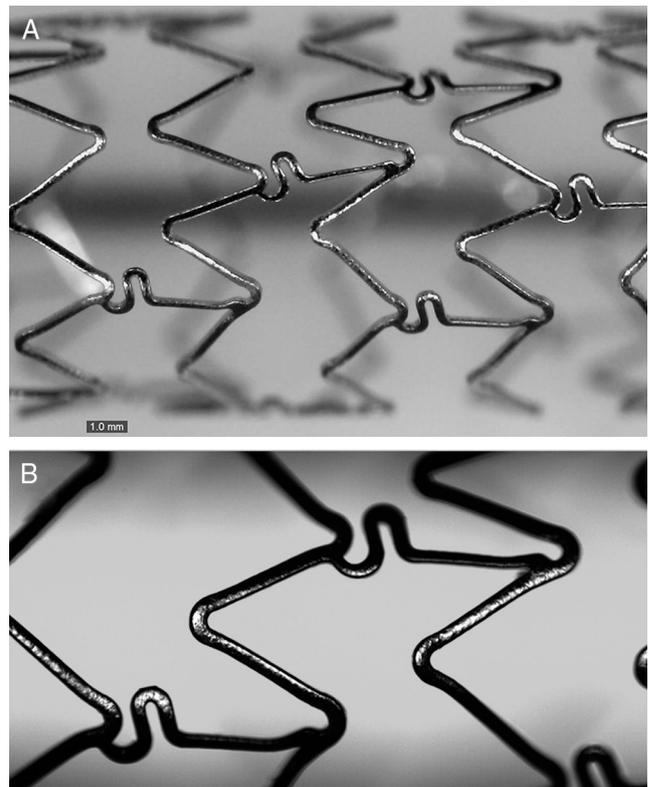


Figura 1. Estructura del *stent* farmacológico BD1, con diseño optimizado para permitir una liberación del fármaco más uniforme. Imagen de microscopía óptica (A) y alta definición (B) obtenida con el sistema QSix (Sensofar, Barcelona, España).

- SFA3, BD3 (n = 3): una variante de SFA1 con perfil de liberación más lento, más del 40% del fármaco se libera en 30 días.
- SFA4 (n = 5): SFA comercial con polímero biodegradable Biomatrix (Biosensors Interventional Technologies, Singapur) con un grosor de *strut* de 120 μm y cargado con 15,6 $\mu\text{g}/\text{mm}$ de biolimus en una matriz abluminal de 10 μm degradable de poli(D,L)-lactato.
- SFA5 (n = 16): SFA comercial con polímero biodegradable Biomime (Meril Life Sciences, India) con un grosor de *strut* de 65 μm y cargado con 1,25 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus con una matriz circunferencial degradable de 2 μm de poli(L)-lactato y poli(L)-glicolato.
- SFA6 (n = 8): SFA comercial con polímero biodegradable Orsiro (Biotronik, Alemania) con un grosor de *strut* de 61 μm y cargado con 1,4 $\mu\text{g}/\text{mm}^2$ de sirolimus con una matriz circunferencial degradable de 7,5 μm de poli(L)-lactato.

Todo el material lo proporcionó iVascular, incluidos los SFA 1, 2 y 3 que aún no están disponibles en el mercado. El diseño del estudio se realizó de forma conjunta con iVascular; el análisis e interpretación de los resultados se hizo de forma independiente de la compañía. El cálculo del tamaño muestral y el número de *stents* incluidos en el estudio se ha realizado según lo recomendado en los documentos de consenso de análisis preclínico de *stents*²⁰.

Análisis angiográfico

Tras implantar los *stents*, se repitió la coronariografía para determinar el diámetro luminal mínimo (DLM) intra-*stent*. Al mes (en todos los animales, n = 34) y a los 3 meses (en los programados para ese seguimiento, n = 6), se realizó nueva coronariografía de control para evaluar el DLM durante el seguimiento. Tanto los DLM como los diámetros de referencia (diámetro medio de los segmentos localizados en los 5 mm proximales y distales del *stent*) se calcularon con el *software* de análisis cuantitativo coronario automatizado Medis QCA-CMS, versión 6.1. Se calcularon los siguientes parámetros de reestenosis angiográfica:

- Pérdida tardía (*late loss*) = DLM inicial – DLM en seguimiento.
- Porcentaje de reestenosis angiográfica = $(1 - [\text{DLM inicial} / \text{diámetro de referencia}]) \times 100$.

Análisis histológico

Tras completar el seguimiento, los animales se sacrificaron (n = 28 al mes; n = 6 a los 3 meses) y se realizó el análisis histológico

tal como se ha descrito previamente¹⁹. Se analizaron las arterias histomorfométricamente con microscopio digital Olympus PROVIS AX70W (Tokio, Japón) con cámara digital Nikon DXM 1200W incorporada y el *software* ImageJ-NIH Image 1.4 (National Institutes of Health, Estados Unidos). Se utilizó la planimetría para determinar el área luminal y el área de membrana elástica interna y calcular así las variables de reestenosis por histología:

- Área neointimal = área de elástica interna – área luminal.
- Porcentaje de estenosis por histología = $(1 - [\text{área luminal} / \text{área de elástica interna}]) \times 100$.

El análisis histológico de seguridad se basa en el análisis semicuantitativo de 4 parámetros¹⁸ (tabla 1): el grado de daño vascular (*injury score*), la intensidad de la inflamación, el depósito persistente de fibrina y el grado de reendotelización calculado como el porcentaje aproximado de superficie luminal cubierta por células endoteliales. En función de la cantidad de superficie cubierta por células endoteliales al mes tras el implante, se define un parámetro adicional —la endotelización completa— como al menos el 95% de la superficie luminal cubierta por dichas células⁸. Los *stents* con *injury score* > 2 se excluyeron del análisis final; dado que pueden mostrar respuestas inespecíficas en la histología.

Método estadístico

Los valores se presentan como proporciones y como media \pm desviación estándar dependiendo del tipo de variable. Las variables semicuantitativas, como las puntuaciones de seguridad en el análisis histopatológico, se describen como media \pm desviación estándar (la forma más común de presentarse en publicaciones previas) y como porcentajes (recomendado por consenso de análisis preclínico de *stents*²⁰).

Se analizaron las diferencias entre la media de los grupos mediante el test de la t de Student y el análisis de la varianza. Para las comparaciones múltiples, se realizaron análisis *post-hoc* mediante el método de Dunnett para la comparación con un control y mediante el método de Tukey para la comparación con todos los grupos. Las variables semicuantitativas se analizaron mediante el test de la χ^2 o el método exacto de Fisher. Para evaluar la posible influencia de diferentes variables (relación *stent*/arteria, arteria tratada, tipo de *stent* e *injury score*) en los resultados finales de estenosis angiográfica e histológica, se llevó a cabo un análisis de regresión lineal multivariante en el que se incluyó, además de las citadas variables, el tipo de *stent* (SC o SFA). Las variables se introdujeron en el modelo en bloque con una p de entrada de 0,05 y

Tabla 1

Parámetros histológicos de evaluación de seguridad

	Grado 0	Grado 1	Grado 2	Grado 3
Daño vascular (<i>injury score</i>)	Sin deformación de LEI ni de capa media	LEI lacerada, capa media comprimida	LEI y capa media laceradas; LEE sin rotura	Rotura de todas las capas; adventicia dañada
Grado de inflamación	Ausente	Infiltrado linfohistiocitario ligero que rodea el <i>stent</i>	Acumulación \geq moderada de células inflamatorias alrededor del <i>stent</i> de forma no circunferencial	Acumulación significativa de células inflamatorias alrededor del <i>stent</i> de forma circunferencial
Acumulación de fibrina	Ausente	Acumulación moderada alrededor del <i>stent</i> , < 1/4 circunferencia arterial	Acumulación moderada alrededor del <i>stent</i> , > 1/4 circunferencia arterial o acumulación intensa alrededor o fuera del <i>stent</i> , < 1/4 circunferencia arterial	Acumulación intensa, > 1/4 circunferencia arterial
Grado de reendotelización	Porcentaje (aproximado) de superficie luminal cubierta por células endoteliales Endotelización completa: al menos el 95% de la superficie luminal cubierta por dichas células			

LEE: lámina elástica externa; LEI: lámina elástica interna.

Publicado con permiso de Pérez de Prado et al.¹⁸.

Tabla 2

Resultados angiográficos al mes

	SC (n = 12)	BD1 (n = 29)	BD2 (n = 4)	BD3 (n = 6)	Biomatrix (n = 4)	Biomime (n = 14)	Orsiro (n = 7)	p [*]
Pérdida tardía (mm)	1,49 ± 0,70	0,87 ± 0,44	0,79 ± 0,35	1,00 ± 0,53	0,67 ± 0,57	0,90 ± 0,34	1,04 ± 0,42	< 0,0001
Estenosis (%)	32,70 ± 19,04	12,33 ± 13,86	11,29 ± 11,99	18,80 ± 22,65	9,35 ± 6,24	10,74 ± 10,26	4,20 ± 5,45	< 0,0001

SC: *stent* convencional; SFA: *stent* farmacológico.

Los datos expresan media ± desviación estándar.

* SC frente a SFA.

una p de salida de 0,1. Para los análisis se empleó el *software* estadístico JMP v10 (SAS Institute Inc.; Cary, North Carolina, Estados Unidos) y se consideró significativo un valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se implantaron 101 de los 102 *stents* planeados (1 SC no se implantó por no disponer del dispositivo en el momento), sobredistendidos a una relación media *stent*/arteria de $1,31 \pm 0,21$, sin diferencias entre los *stents*. Los animales completaron los seguimientos planeados y los controles angiográficos se realizaron sin incidencias, excepto en un animal que presentó parada cardíaca tras la inducción anestésica. Los análisis histológicos se realizaron sin incidencias. Todos los segmentos tratados estaban permeables. Se excluyó del análisis final por presentar un *injury score* > 2 un total de 8 *stents* (2 SC, 2 BD1, 2 BD2, 1 BD3 y 1 Biomatrix). No se pudo realizar el análisis angiográfico de 6 *stents* por presencia de ramas superpuestas en el segmento en 1 caso (Orsiro), por inadecuada opacificación en 2 casos (BD1 y Biomime) y en los 3 *stents* del citado animal que falleció.

Análisis de eficacia antiproliferativa

Los resultados angiográficos al mes se muestran en la [tabla 2](#). Se observa una reducción significativa tanto en la pérdida tardía (*late loss*) como en la estenosis para todos los SFA en comparación con el SC de control ($p < 0,0001$ para ambas variables). Los nuevos SFA (BD1, 2 y 3) mostraron valores de pérdida tardía ($p = 0,0004$) y estenosis angiográfica ($p < 0,0001$) menores que el SC y sin diferencias con los SFA comerciales. A los 3 meses se repitió la angiografía en los 6 animales programados y se observó la desaparición de las diferencias entre los SFA (BD1, BD3, Biomime) y el SC de control, con reducción de la estenosis frente a los resultados del mes, muy notable en los SC (-15,3%), pero también evidente en Biomime (-6,7%) y BD1 (-0,6%).

El análisis histológico al mes se representa en la [figura 2](#) y en la [tabla 3](#). Todos los SFA presentaron menor área neointimal y de estenosis que el SC ($p < 0,0001$ para ambas variables). Los nuevos SFA mostraron valores de área neointimal ($p = 0,0004$) y área de estenosis ($p < 0,0001$) menores que el SC y sin diferencias con los SFA comerciales. Los resultados histológicos de reestenosis a los 3 meses ([figura 3](#) y [tabla 4](#)) mostraron

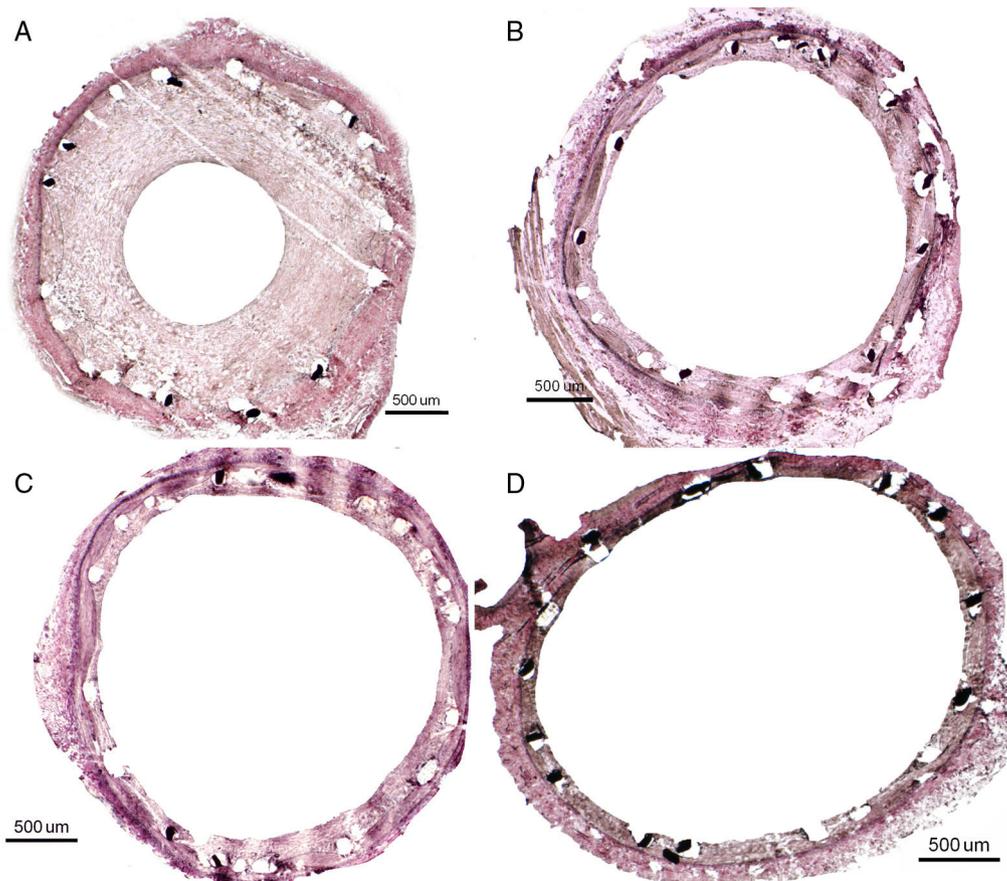


Figura 2. Resultados histológicos al mes: A: *stent* convencional. B: *stent* farmacológico BD1. C: *stent* farmacológico comercial, Orsiro. D: *stent* farmacológico comercial, Biomime.

Tabla 3
Resultados histológicos al mes

	SC (n = 10)	BD1 (n = 25)	BD2 (n = 4)	Biomatrix (n = 4)	Biomime (n = 12)	Orsiro (n = 8)	p*
Área neointimal (mm ²)	3,20 ± 1,06	1,83 ± 0,67	2,54 ± 1,42	1,61 ± 0,67	1,46 ± 0,65	1,59 ± 0,48	< 0,0001
Área de estenosis (%)	53,96 ± 12,35	31,78 ± 11,16	36,15 ± 20,20	26,37 ± 12,27	28,80 ± 13,32	29,78 ± 8,37	< 0,0001
Superficie endotelizada (%)	98,17 ± 1,63	96,36 ± 3,41	91,42 ± 8,18	100	96,38 ± 3,32	93,63 ± 1,30	0,075
Endotelización completa (> 95%)	90	52	50	100	50	0	0,007
Daño vascular (<i>injury score</i>)	0,93 ± 0,33	0,60 ± 0,42	1,09 ± 0,54	0,41 ± 0,47	0,46 ± 0,23	0,51 ± 0,24	0,011
Daño vascular (<i>injury score</i>) ≥ 1	70	12	50	25	0	0	< 0,0001
Puntuación de inflamación	0,61 ± 0,20	0,46 ± 0,18	0,73 ± 0,72	0,40 ± 0,13	0,41 ± 0,18	0,52 ± 0,07	0,102
Puntuación de inflamación ≥ 1	0	0	25	0	0	0	0,555
Puntuación de fibrina	0,53 ± 0,48	1,21 ± 0,45	1,04 ± 0,70	1,00 ± 0,71	1,35 ± 0,43	1,46 ± 0,43	< 0,0001
Puntuación de fibrina ≥ 1	30	92	50	75	100	100	< 0,0001

SC: *stent* convencional; SFA: *stent* farmacoadactivo.

Los datos expresan porcentaje o media ± desviación estándar.

* SC frente a SFA.

valores inferiores a los observados en los seguimientos de 1 mes. Los SFA mostraron menor área neointimal que los SC ($p = 0,012$), especialmente reseñable entre BD1 y SC ($1,07 \pm 0,44 \text{ mm}^2$ frente a $2,63 \pm 1,02 \text{ mm}^2$; $p = 0,027$). Sin embargo, los resultados de BD3 fueron peores que los de BD1 ($1,07 \pm 0,44 \text{ mm}^2$ frente a $1,66 \pm 0,40 \text{ mm}^2$; $p = 0,059$). En la misma línea están los resultados en términos de estenosis ($41,30 \pm 7,28\%$ frente a $24,68 \pm 8,99\%$; $p = 0,070$).

Se realizó análisis multivariable y el modelo de mayor capacidad de predicción mostró una asociación independiente de la estenosis con mayor *injury score* ($B = 18,43$; intervalo de confianza del 95%, $12,02$ – $24,84$; $p < 0,0001$) y menor estenosis en SFA ($B = -16,84$; intervalo de confianza del 95%, $-23,55$ a $-10,13$; $p < 0,0001$).

Análisis de seguridad

Las variables de seguridad al mes se muestran en la [tabla 3](#). Los SC mostraron mayor grado de endotelización que los SFA ($p = 0,075$ en el análisis cuantitativo, $p = 0,007$ en el análisis semicuantitativo). En cuanto al *injury score*, la diferencia era inversa: con menor valor cuantitativo ($p = 0,011$) y menor número de *stents* con *injury score* ≥ 1 ($p < 0,0001$) en los SFA que en los SC. El grado de inflamación fue globalmente bajo, con casi todos los *stents* por debajo de grado 1. Se encontró menor depósito de fibrina en el grupo de SC que en los SFA testados ($p < 0,0001$). En el análisis individual del *stent* BD1 frente al SC se observaron diferencias significativas favorables a BD1 en *injury score* y en el grado de inflamación ($p < 0,036$ en ambos casos).

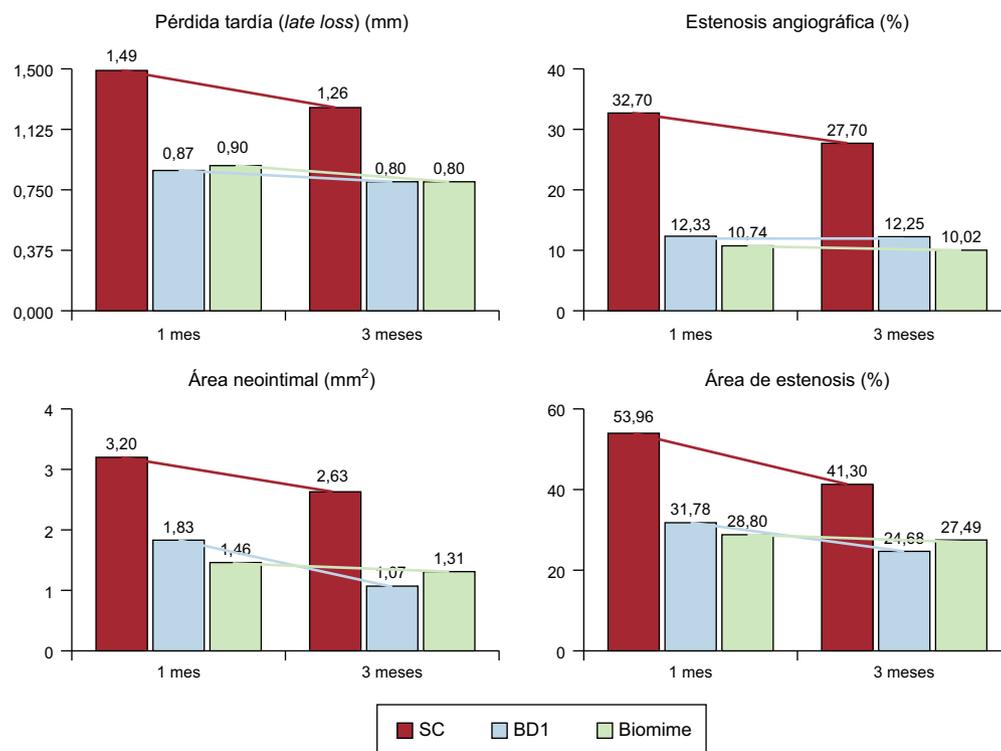


Figura 3. Evolución de los parámetros de eficacia en los *stents* de los que se dispone de datos al mes y a los 3 meses (SC, SFA BD1 y Biomime). SC: *stent* convencional; SFA: *stent* farmacoadactivo.

Tabla 4

Resultados histológicos a 3 meses

	SC (n = 2)	BD1 (n = 5)	BD3 (n = 5)	Biomime (n = 3)	p ^a
Área neointimal (mm ²)	2,63 ± 1,02	1,07 ± 0,44	1,66 ± 0,40	1,31 ± 0,69	0,012
Área de estenosis (%)	41,30 ± 7,28	24,68 ± 8,99	38,18 ± 15,29	27,49 ± 12,99	0,288
Superficie endotelizada (%)	99 ± 1,41	98,50 ± 1,41	98,67 ± 0,94	96,86 ± 1,62	0,449
Endotelización completa (> 95%)	100	100	80	100	0,585
Daño vascular (<i>injury score</i>)	0,99 ± 0,12	0,85 ± 0,58	0,64 ± 0,45	0,44 ± 0,30	0,376
Daño vascular (<i>injury score</i>) ≥ 1	100	20	40	33	0,346
Puntuación de inflamación	0,68 ± 0,41	0,43 ± 0,24	0,57 ± 0,16	0,52 ± 0,12	0,285
Puntuación de inflamación ≥ 1	0	0	0	0	—
Puntuación de fibrina	0	0,13 ± 0,3	0	0	0,699
Puntuación de fibrina ≥ 1	0	0	0	0	—

SC: *stent* convencional; SFA: *stent* farmacológico.

Los datos expresan porcentaje o media ± desviación estándar.

^a SC frente a SFA.

A los 3 meses desaparecen todas las diferencias (tabla 4). Los valores de daño vascular e inflamación son muy similares a los observados al mes: desaparece la deposición de fibrina y presenta endotelización virtualmente completa.

DISCUSIÓN

Este estudio analiza la seguridad y eficacia de unos nuevos modelos de *stents* liberadores de sirolimus y con polímero biodegradable, en comparación con SC y con 3 SFA actualmente comercializados. Se demuestra que los nuevos dispositivos, en el modelo preclínico, disminuyen el grado de reestenosis de forma sostenida hasta los 3 meses (fundamentalmente BD1) en comparación con el SC control y con unos parámetros de seguridad equivalentes a los SFA comercializados y, en ciertos aspectos (inflamación, daño vascular), potencialmente superiores a los SC.

Eficacia anti-reestenótica

En general, los nuevos SFA mostraron mayor eficacia en la prevención de la reestenosis que el SC de control. En estudios previos ya se ha demostrado que distintos SFA con sirolimus liberado desde polímero biodegradable disminuyen significativamente la pérdida tardía y la revascularización del vaso tratado en comparación con los SC¹⁵ y resultados similares a SFA con polímero estable^{13–15}. De forma individual, los *stents* BD1 y BD2 presentaron parámetros de reestenosis muy similares y significativamente mejores que los SC; sin embargo, BD3 presentó peores valores, especialmente durante el seguimiento a los 3 meses, por lo que se discontinuó su uso en las siguientes fases de estudio.

El modelo experimental de coronarias sanas se basa en la inducción de daño vascular por sobreexpansión de los *stents* y, como se ha descrito previamente²², un mayor grado de daño representa un mayor estímulo para la proliferación neointimal. Aunque en este estudio la razón *stent*/arteria es superior a la recomendada²⁰, es reseñable que no se asociara con un excesivo *injury score* que puede inducir respuestas vasculares inespecíficas: menos de un 8% de los *stents* presentaron un valor ≥ 2, sin diferencias según el tipo de los *stents*. Ante la posible repercusión que la eliminación de estos datos pudiera tener en los resultados globales, se repitieron los análisis incluyéndolos y no se observó ninguna variación relevante. En el análisis multivariante, el uso de SFA se asoció de forma independiente con menor grado de estenosis; lo cual confirma que el efecto es real y no está exclusivamente relacionado con el daño producido en la arteria.

Seguridad de los nuevos *stents*

El grado de endotelización es peor en los SFA que en el SC control; lo que se explica por el efecto del sirolimus, un potente inhibidor de la proliferación endotelial mediante la desactivación de la vía de la cinasa p70 S6: un paso fundamental para la progresión del ciclo celular en respuesta a factores de crecimiento²³. Las diferencias entre SC y BD1 son menores que con el grupo global de SFA y no alcanzan la significación estadística (p = 0,121 en el análisis cuantitativo, p = 0,055 en el análisis semicuantitativo).

Todos los *stents* analizados presentaban valores bajos de *injury score*, con una media < 1 a pesar de la elevada relación *stent*/arteria. Se aprecia una diferencia significativa entre los SFA y los SC, con menor grado de daño vascular en los SFA. Aunque la relación *stent*/arteria fue similar en ambos grupos (1,34 ± 0,19 frente a 1,30 ± 0,22; p = 0,535), no se puede descartar que alguna variable no controlada influyera en esta diferencia. De cualquier modo, este hallazgo también refleja el alto grado de biocompatibilidad del material probado.

En la misma línea, la inflamación mostró una tendencia (p = 0,102) a ser menor en los SFA que en los SC. Y en el caso concreto de los *stents* BD1, tanto el grado de inflamación como el de daño vascular fueron significativamente menores (p < 0,036) que con los SC. Varios factores podrían explicar este hallazgo: el efecto antiinflamatorio del fármaco, el diseño optimizado del *stent* para la mejor liberación del fármaco y la contribución del polímero biodegradable. Los valores de inflamación observados son notablemente inferiores a los observados en un estudio previo con SFA con polímero estable¹⁹. Aunque no es posible realizar comparaciones directas, estos hallazgos ya se han descrito en otras series^{11,12}.

El depósito de fibrina alrededor de los *stents* fue mayor en el grupo de SFA, lo cual indica el efecto del fármaco^{18,19}. Como se discute posteriormente, su desaparición a los 3 meses supone un interesante hallazgo.

Del mismo modo que se apreciaron diferencias entre BD1 y BD3, BD2 mostró valores significativamente superiores de *injury score* e inflamación y peores datos de endotelización que BD1. Consecuentemente, también se prescindió del uso de BD2 en las últimas fases del estudio.

Evolución a medio plazo (3 meses)

Los parámetros histológicos de reestenosis muestran una reducción del área neointimal y el área de estenosis en comparación con los observados al mes en todos los *stents*. Este

fenómeno ya se ha descrito previamente²⁴, aunque no siempre aparece en todos los SFA: de hecho, los SFA liberadores de paclitaxel tienden a presentar una mayor pérdida tardía²⁵. Este fenómeno tiene su explicación en la sustitución del colágeno tipo III por colágeno tipo I, que condiciona retracción de la neointima, como sucede en la cicatrización de cualquier herida, y una reducción de la densidad de células musculares lisas²⁶.

Las variables de seguridad a los 3 meses muestran una evolución muy favorable, sin presencia de mayor inflamación o daño vascular tardíos y con una endotelización completa. La desaparición de la fibrina puede reflejar la rápida liberación del fármaco en ese periodo, así como la biocompatibilidad del polímero.

Limitaciones

Como todos los modelos preclínicos, este estudio tiene limitaciones intrínsecas: ningún modelo animal puede reproducir con total fidelidad las complejas características de la enfermedad coronaria humana²⁰. Los modelos de animales enfermos pueden mostrar algunas de ellas, pero su validez aún no está contrastada. Aunque la respuesta proliferativa obtenida permite evaluar la actividad del fármaco y el comportamiento del *stent*, se desconoce si este efecto sería el mismo en las arterias con gran contenido aterosclerótico, en las que la fragmentación de la lámina elástica interna aparece espontáneamente como parte del proceso inflamatorio general, especialmente en las placas vulnerables, en el que otros mediadores participan en el proceso de reparación vascular. A pesar de ello, el modelo de arteria coronaria porcina sigue siendo el recomendado por los documentos de consenso para la evaluación de dispositivos. La evaluación histológica utilizando variables semicuantitativas también limita la exactitud; sin embargo, se han seguido los estándares de análisis postulados por consenso de expertos²⁰. El SC empleado es una variante no comercial del *stent* Architect sin información específica de seguridad/eficacia, empleado por ser la estructura básica de los SFA analizados. El tamaño muestral es limitado, aunque se seleccionó siguiendo los estándares marcados por los citados documentos de consenso. En este sentido, si bien la potencia para detectar diferencias con los SC es adecuada, la potencia para detectar diferencias entre SFA es menor; por lo que estas comparaciones deben interpretarse con cautela.

CONCLUSIONES

En el modelo experimental de arteria coronaria porcina sana con implante de *stents* sobredimensionados, los nuevos *stents* con polímero biodegradable liberadores de sirolimus probados han mostrado una reducción significativa de la reestenosis en comparación con el SC y esta se mantiene a los 3 meses. Su perfil de seguridad es superponible a los SC a los 3 meses. Además, no se han encontrado diferencias relevantes con los SFA con polímero biodegradable actualmente disponibles en el mercado.

FINANCIACIÓN

LVD Biotech/iVascular aportó todos los *stents* del estudio y proporcionó ayuda económica para la realización de los procedimientos experimentales y análisis histológicos.

CONFLICTO DE INTERESES

A. Pérez de Prado y F. Fernández Vázquez han sido consultores y recibido apoyo para este y otros proyectos de investigación por parte de LVD Biotech/iVascular. M. Molina Crisol, M. Amorós

Aguilar, I. Pérez Serranos, A. Vidal Parreu, A. Benavides Montegordo y L. Duocastella Codina son empleados de LVD Biotech/iVascular. L. Duocastella Codina es CEO (*Chief Executive Officer*) y posee acciones de LVD Biotech/iVascular.

¿QUÉ SE SABE DEL TEMA?

- Aunque los SFA de nueva generación solucionan muchos de los problemas de los SFA más antiguos, aún queda margen de mejora en aspectos como el desarrollo de neoateroesclerosis. La evolución en los polímeros transportadores podría ayudar en esta tarea. Antes de realizar comparativas clínicas, los nuevos desarrollos deben probarse en modelos preclínicos: el de arterias coronarias sanas porcinas es el más aceptado para valorar la eficacia y la seguridad.

¿QUÉ APORTA DE NUEVO?

- El análisis de estos nuevos *stents* liberadores de sirolimus con polímero biodegradable demuestra su eficacia sostenida en el tiempo (hasta 3 meses) en forma de menor reestenosis (angiográfica e histológica) que los *stents* metálicos convencionales y similar a la de otros SFA comercializados. Por otra parte, su seguridad en términos de daño vascular, inflamación y depósitos de fibrina persistentes, y reendotelización es comparable a la de los SFA comercializados al mes y similar a la de los SC a los 3 meses.

BIBLIOGRAFÍA

- Spaulding C, Daemen J, Boersma E, Cutlip DE, Serruys PW. A pooled analysis of data comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med*. 2007;356:989–997.
- Jiménez-Quevedo P, Serrador A, Pérez de Prado A, Pan M. Spanish Cardiac Catheterization and Coronary Intervention Registry. 25th Official Report of the Spanish Society of Cardiology Working Group on Cardiac Catheterization and Interventional Cardiology (1990–2015). *Rev Esp Cardiol*. 2016;69:1180–1189.
- Lagerqvist B, James SK, Stenestrand U, Lindback J, Nilsson T, Wallentin L. Long-term outcomes with drug-eluting stents versus bare-metal stents in Sweden. *N Engl J Med*. 2007;356:1009–1019.
- Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas-Ramón C, et al. Time course of reendothelialization of stents in a normal coronary swine model: characterization and quantification. *Vet Pathol*. 2011;48:1109–1117.
- Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas-Ramón C, et al. Scanning Electron Microscopy Analysis of Luminal Inflammation Induced by Different Types of Coronary Stent in an Animal Model. *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:159–162.
- Joner M, Finn AV, Farb A, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:193–202.
- Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas-Ramón C, et al. Endothelialization of nonapposed stent struts located over the origin of a side branch: results with different carbofilm-coated stents. *J Interv Cardiol*. 2009;22:222–227.
- Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas C, et al. Preclinical Evaluation of Coronary Stents: Focus on Safety Issues. *Curr Vasc Pharmacol*. 2013;11:74–99.
- De la Torre Hernández J, Alfonso F, Gimeno F, et al. Thrombosis of second-generation drug-eluting stents in real practice results from the multicenter Spanish registry ESTROFA-2 (Estudio Español Sobre Trombosis de Stents Farmacoactivos de Segunda Generación-2). *JACC Cardiovasc Interv*. 2010;3:911–919.
- Van Houwelingen KG, Lam MK, Lowik MM, et al. Outcome After Myocardial Infarction Treated With Resolute Integrity and Promus Element Stents: Insights From the DUTCH PEERS (TWENTE II) Randomized Trial. *Rev Esp Cardiol*. 2016;69:1152–1159.
- Pendyala LK, Matsumoto D, Shinke T, et al. Nobori Stent Shows Less Vascular Inflammation and Early Recovery of endothelial Function Compared With Cypher Stent. *JACC Cardiovasc Interv*. 2012;5:436–444.
- Koppara T, Wittchow E, Byrne RA, Bayer G, Diener T, Joner M. Permanent and biodegradable polymer coatings in the absence of antiproliferative drugs in a porcine model of coronary artery stenting. *EuroIntervention*. 2016;11:1020–1026.
- Saito S, Valdes-Chavarrí M, Richardt G, et al. A randomized, prospective, intercontinental evaluation of a bioresorbable polymer sirolimus-eluting coronary stent

- system: the CENTURY II (Clinical Evaluation of New Terumo Drug-Eluting Coronary Stent System in the Treatment of Patients with Coronary Artery Disease) trial. *Eur Heart J*. 2014;35:2021–2031.
14. Kang SH, Park KW, Kang DY, et al. Biodegradable-polymer drug-eluting stents vs. bare metal stents vs. durable-polymer drug-eluting stents: a systematic review and Bayesian approach network meta-analysis. *Eur Heart J*. 2014;35:1147–1158.
 15. Pilgrim T, Heg D, Roffi M, et al. Ultrathin strut biodegradable polymer sirolimus-eluting stent versus durable polymer everolimus-eluting stent for percutaneous coronary revascularisation (BIOSCIENCE): a randomised, single-blind, non-inferiority trial. *Lancet*. 2014;384:2111–2122.
 16. Nakazawa G, Otsuka F, Nakano M, et al. The pathology of neoatherosclerosis in human coronary implants bare-metal and drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1314–1322.
 17. 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.
 18. Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, Cuellas Ramón C, et al. Safety and Efficacy of Different Paclitaxel-eluting Balloons in a Porcine Model. *Rev Esp Cardiol*. 2014;67:456–462.
 19. Estévez-Loureiro R, Pérez de Prado A, Pérez-Martínez C, et al. Safety and Efficacy of New Sirolimus-eluting Stent Models in a Preclinical Study. *Rev Esp Cardiol*. 2015;68:1118–1124.
 20. Schwartz RS, Edelman E, Virmani R, et al. Drug-eluting stents in preclinical studies: updated consensus recommendations for preclinical evaluation. *Circ Cardiovasc Interv*. 2008;1:143–153.
 21. Byrne RA, Serruys PW, Baumbach A, et al. Report of a European Society of Cardiology-European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions task force on the evaluation of coronary stents in Europe: executive summary. *Eur Heart J*. 2015;36:2608–2620.
 22. Diego A, Perez de Prado A, Cuellas C, et al. In-stent Restenosis Related to Vessel Injury Score Degree. Are Current Experimental Models Valid for Drug-Eluting Stents Analysis? *Rev Esp Cardiol*. 2011;64:745–751.
 23. Joner M, Nakazawa G, Finn AV, et al. Endothelial cell recovery between comparator polymer-based drug-eluting stents. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:333–342.
 24. Kim WH, Hong MK, Virmani R, Kornowski R, Jones R, Leon MB. Histopathologic analysis of in-stent neointimal regression in a porcine coronary model. *Coron Artery Dis*. 2000;11:273–277.
 25. Buszman PP, Milewski K, Pajak J, et al. Differences in vessel healing following delivery of everolimus or paclitaxel: a comparative experimental study using identical stent and biodegradable polymer platforms. *EuroIntervention*. 2014;10:724–731.
 26. Farb A, Kolodgie FD, Hwang JY, et al. Extracellular matrix changes in stented human coronary arteries. *Circulation*. 2004;110:940–947.