

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

VIVIANE DE ARAÚJO GOUVEIA

**IMPACTO DO METOTREXATO NA REESTENOSE APÓS IMPLANTE DE STENT
CORONARIANO CONVENCIONAL**



**RECIFE
2015**

VIVIANE DE ARAÚJO GOUVEIA

**IMPACTO DO METOTREXATO NA REESTENOSE APÓS IMPLANTE DE
STENT CORONARIANO CONVENCIONAL**

Pesquisa vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco – Nível: Doutorado para apreciação da banca examinadora.

Linha de Pesquisa: Território, desenvolvimento e inovação tecnológica.

Área de concentração: Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista

Orientador: Profº Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Professor Adjunto do Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

**RECIFE
2015**

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Gouveia, Viviane de Araújo

Impacto do metotrexato na reestenose após implante de stent coronariano convencional/ Viviane de Araújo Gouveia– Recife: O Autor, 2015.

80 folhas : il., fig., tab.

Orientador: Dinaldo Cavalcanti de Oliveira

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco.
Centro de Ciências Biológicas. Inovação Terapêutica, 2015.

Inclui bibliografia, apêndices e anexo

1. Metotrexato 2. Angiosplastia 3. Reestenose coronária 4. Stents farmacológicos I. Oliveira, Dinaldo Cavalcanti de (orientador) II. Título

615.1

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2015- 192



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM INOVAÇÃO TERAPÊUTICA**

Recife, 26 de maio de 2015.

Tese de doutorado defendida e APROVADA, por decisão unânime, em 26 de maio de 2015, cuja Banca Examinadora foi constituída pelos seguintes professores:

PRESIDENTE E PRIMEIRO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira (Departamento de medicina clínica – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR INTERNO: Prof. Dr Moacyr Jesus Barreto de Melo Rêgo (Departamento de Bioquímica - Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

PRIMEIRO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Edgar Guimarães Victor (Departamento de medicina clínica – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

SEGUNDO EXAMINADOR EXTERNO: Prof. Dr. Emanuel Sávio Cavalcanti Sarinho (Departamento de medicina clínica – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

TERCEIRA EXAMINADORA EXTERNA: Profa. Dra. Michely Cristiny Pereira (Núcleo de Pesquisas em Inovação Terapêutica – Universidade Federal de Pernambuco)

Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

A Deus, por ser o responsável pelas minhas vitórias.

*Aos meus pais, pelo amor e pela atenção dispensados em todos os
momentos da minha vida.*

Ao meu irmão, pelo companheirismo no dia a dia.

AGRADECIMENTOS

A Deus, pela lealdade em todos os momentos da minha vida.

À minha família, pela força, pelo apoio e pelo carinho sempre.

Ao Prof. Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira, pela confiança, pelo apoio e pelo incentivo que me motivaram à realização deste grande sonho.

Aos professores do Programa de Pós-graduação em Inovação Terapêutica, pelas orientações imprescindíveis durante o curso.

Ao funcionário Sr. Paulo Brito, pela simpatia e boa vontade em nos ajudar.

Aos Docentes da Banca Examinadora deste trabalho, pela disponibilidade e pelas contribuições imprescindíveis a esta tese de doutorado.

A todos os profissionais da Hemodinâmica do Hospital das Clínicas, pela atenção, pelo carinho e pela boa receptividade.

Aos novos amigos que fiz durante o doutorado, pelos momentos de felicidade compartilhados ao longo do curso.

Aos pacientes, pois eles são o motivo para que eu continue a busca pelo aprendizado contínuo.

RESUMO

Introdução: O advento dos stents convencionais e daqueles liberadores de fármacos aboliu o recolhimento elástico provocado pela angioplastia por balão, porém, estes dispositivos apresentaram como consequência a hiperplasia neointimal, que é responsável pela reestenose angiográfica. O metotrexato, antagonista do folato, inibe a fase S do ciclo de mitose celular, reduzindo a produção de citocinas e outros mediadores inflamatórios que podem estar envolvidos na hiperplasia neointimal. **Objetivo:** Avaliar a segurança do Metotrexato (MTX) em pacientes com Doença Arterial Coronariana submetidos à Intervenção Coronariana Percutânea (ICP) com stents convencionais e o impacto da droga na reestenose clínica e angiográfica. **Método:** Estudo clínico de fase II aberto, prospectivo, não randomizado, realizado de setembro de 2011 a maio de 2014. **Resultados:** Foram recrutados 16 pacientes com indicação de implante de stent, sendo que estes tomaram 5 mg de MTX 15 dias antes e 30 após a ICP. Todos os pacientes foram submetidos à nova angiografia coronariana após 9 meses. A artéria coronária descendente anterior apresentou o maior número de lesões 16 (34%). O diâmetro médio dos stents foi de $3,0 \pm 0,4$ mm e o comprimento médio foi de $18,1 \pm 5,9$ mm. Não houve complicações relacionadas à ICP. As complicações do MTX foram menores e com prevalência de 18,7%. Nenhum paciente necessitou de interrupção no uso do medicamento e os sintomas desapareceram ao final do tratamento. A reestenose angiográfica foi 6,2% e a clínica foi zero (ausência de sintoma e de isquemia em cintilografia do miocárdio). **Conclusão:** O MTX foi seguro e gerou a hipótese de possível efeito benéfico na reestenose após implante de stent convencional.

Palavras-chave: Reestenose. Metotrexato. Angioplastia.

ABSTRACT

Introduction: Bare metal stents (BMS) and those releasing drug abolished the elastic recoil caused by Plain Old Balloon Angioplasty (POBA), however, these devices showed the consequence of neointimal hyperplasia, which is responsible for angiographic restenosis. The methotrexate, folate antagonist inhibits S phase of mitotic cell cycle by reducing the production of cytokines and the other inflammatory mediators that may be involved in the neointimal hyperplasia.

Objective: To evaluate the safety of Methotrexate (MTX) in patients with coronary artery disease undergoing Percutaneous Coronary Intervention (PCI) with BMS and the impact of drugs in clinical and angiographic restenosis.

Methods: Clinical phase II open, prospective, nonrandomized, held from September 2011 to May 2014. **Results:** We recruited 16 patients with stent implantation indication, and these took 5 mg of MTX 15 days before and 30 after PCI. All patients underwent coronary angiography after nine months. The anterior descending coronary artery had the highest number of lesions 16 (34%). The average diameter of the stents was 3.0 ± 0.4 mm and the average length was 18.1 ± 5.9 mm. There were no complications related to PCI. The MTX complications were minor and with a prevalence of 18.7%. No patient required interruption in the use of the drug, and the symptoms disappeared after the treatment. Angiographic restenosis was 6.2% and the clinic was zero (no symptoms and ischemia on myocardial scintigraphy). **Conclusion:** MTX was safe and led the hypothesis of possible beneficial effect on restenosis after conventional stent implantation.

Key words: Restenosis. Methotrexate. Angioplasty.

LISTA DE ABREVIATURAS

- ACD** – Artéria coronariana direita
- ACQ** – Angiografia Coronariana Quantitativa
- ACX** – Artéria circunflexa
- ADA** – Artéria descendente anterior
- AIH** – Autorização de Internação Hospitalar
- ALT** – Alanina transferase
- ANVISA** – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- AR** – Artrite Reumatóide
- AST** – Aspartato transferase
- ATC** – Angioplastia Transluminal Coronariana
- AVC** – Acidente Vascular Cerebral
- CCS** – Centro de Ciências da Saúde
- CE** – Células endoteliais
- CEP** – Comitê de Ética em Pesquisa
- CFU** – Células endoteliais de unidades formadoras de colônia
- CML** – Células musculares lisas
- CPE** – Células progenitoras endoteliais
- CRM** – Cirurgia de revascularização miocárdica
- DAC** – Doença Arterial Coronariana
- DCV** – Doença cardiovascular
- DM** – *Diabetes mellitus*
- DP** – Descendente posterior
- FGF** – Fator de crescimento de fibroblastos
- HAS** – Hipertensão Arterial Sistêmica
- HC** – Hospital das Clínicas
- HDL** – High density lipoprotein
- IAM** – Infarto agudo do miocárdio
- ICP** – Intervenção Coronariana Percutânea
- IGF** – Fator de crescimento semelhante à insulina
- IL** – Interleucina
- MAPK** – Proteína mitogenativada quinase

MCP-1 – Proteína-1 quimioatratante monocitária
MEC – Matriz extracelular
MHC – Complexo principal de histocompatibilidade
MMPs – Metaloproteinases de matriz
MTX – Metotrexato
OMS – Organização Mundial de Saúde
PEVA – Polímeros acetato de vinil polietileno
PBMA – Metacrilato de poly n-butil
PDGF – Fator de crescimento derivado das plaquetas
RIS – Reestenose intra-stent
SAE – Stents autoexpansíveis
SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia
SC – Stent convencional
SF – Stent farmacológico
SCA – Síndrome coronariana aguda
SIH – Sistema de Informação Hospitalar
SM – Salário mínimo
SPSS – Statistical Package for the Social Sciences
SUS – Sistema Único de Saúde
TCE – Tronco coronariano esquerdo
TCLE – Termo de Consentimento Livre Esclarecido
TGF – b – Fator de crescimento transformante beta
TKR – Tirosina quinase
TNF- α – Fator de necrose tumoral α
UFPE – Universidade Federal de Pernambuco
VCAM-1 – Moléculas vasculares – 1
VEGF – Fator de crescimento endotelial vascular
VP – Ventricular posterior
VSMC – Células do músculo liso vascular

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Características sociodemográficas.	399
Tabela 2 – Fatores de risco e antecedentes pessoais do pacientes.....	4040
Tabela 3 – Distribuição dos locais de lesões arteriais moderadas e graves.	4040
Tabela 4 – Diâmetro e comprimento dos stents implantados	4040
Tabela 5 – Distribuição dos pacientes avaliados quanto às complicações referentes aos procedimentos de cateterismo e angioplastia e quanto ao uso do Metotrexato.....	411
Tabela 6 – Prevalência de reestenose clínica e angiográfica.	41

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	14
1.1	A reestenose coronariana.....	17
1.2	Mecanismo de fisiopatologia da reestenose após implante de stent.....	17
1.3	Mecanismo de redução da reestenose intra stent.....	22
1.4	O mecanismo de inflamação e a intervenção coronariana percutânea.....	23
2	HIPÓTESE.....	32
3	OBJETIVOS.....	33
3.1	Geral.....	33
3.2	Específicos.....	33
4	MÉTODO.....	34
4.1	Tipo de estudo.....	34
4.2	Local do Estudo.....	34
4.3	Amostra.....	34
4.4	Critérios de inclusão.....	34
4.5	Critérios de exclusão.....	34
4.6	Fluxograma do estudo.....	35
4.7	Definição das variáveis.....	35
4.7.1	Angiografia coronariana quantitativa (ACQ).....	37
4.8	Instrumento para coleta de dados.....	37
4.9	Procedimentos éticos.....	37
4.9.1	Processamento e análise dos dados.....	38

5	RESULTADOS.....	39
6	DISCUSSÃO.....	43
7	LIMITAÇÕES DO ESTUDO.....	51
8	CONCLUSÃO.....	52
	REFERÊNCIAS.....	53
	APÊNDICES.....	62
	APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES ALFABETIZADOS.....	62
	APÊNDICE B – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES NÃO ALFABETIZADOS.....	64
	APÊNDICE C – FICHA DE CONSULTA PARA REAVALIAÇÃO QUINZENAL DOS PACIENTES DO ESTUDO.....	66
	APÊNDICE D – FICHA CLÍNICA DO ESTUDO.....	67
	APÊNDICE E – EFFECT OF METHOTREXATE ON RESTENOSIS AFTER BARE-METAL STENTS IMPLANTATION.....	68
	ANEXO A – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO.....	76

1 INTRODUÇÃO

De acordo com dados do Sistema de Informações de Mortalidade do Ministério da Saúde do Brasil, no ano de 2010, 40% dos óbitos notificados corresponderam às chamadas doenças não transmissíveis, principalmente as enfermidades do aparelho cardiovascular, sendo a mais importante a doença arterial coronariana (DAC), promovendo aproximadamente mais de 1.031.600 óbitos no país (BRASIL, 2014a).

A etiologia da DAC é multifatorial e esta doença é responsável por um grande número de mortes e incapacitações. Alguns estudos experimentais e clínicos proporcionaram uma maior compreensão da fisiopatologia da DAC e o aperfeiçoamento do tratamento, como por exemplo, da intervenção coronariana percutânea com implante (ICP) de stent (MOSES et al., 2003).

A ICP com stents revolucionou o tratamento das DAC, representando uma modalidade de tratamento alternativo às cirurgias de revascularização miocárdica (CRM), além de demonstrar superioridade em relação ao cateter balão convencional, por proporcionar maior segurança e eficácia ao procedimento, pois reduziu a taxa de reestenose clínica e angiográfica (ALMEIDA, 2005; KUBO et al., 2015).

A angioplastia por balão está associada a uma taxa de reestenose angiográfica de aproximadamente 30 a 60%, sendo o recolhimento elástico o principal mecanismo desta modalidade (EECKHOUT et al., 2012).

Os stents convencionais praticamente aboliram o recolhimento elástico, mas alguns estudos apresentaram como consequência a hiperplasia neointimal, que é o crescimento de tecido na região interna e nas margens vasculares dos stents. A maior responsável pela reestenose angiográfica após implante de stent é a hiperplasia neointimal (LI et al., 2007).

A taxa de reestenose após o implante de stent convencional varia de acordo com o cenário clínico e as características angiográficas das artérias coronárias dos pacientes, variando entre 10% a 50-60% (BEOHAR et al., 2007; EECKHOUT et al., 2012). Alguns fatores de risco clínicos e angiográficos podem justificar essas taxas de reestenose. Os fatores biológicos, como a resistência às drogas antiproliferativas, reação de hipersensibilidade ao polímero, reação de hipersensibilidade à plataforma de stent metálico, expressão de biomarcadores genéticos da inflamação; fatores

arteriais, como a parede de cisalhamento; tromboestese; remodelamento vascular; ICP em vasos de pequeno calibre, reestenose tardia devido à redução da dose da droga, à reação inflamatória crônica, à deposição persistente de fibrina ou neoaterosclerose; fatores relacionados à constituição estrutural do stent, como a cinética da distribuição da droga no polímero, tipo de stent – convencional ou farmacológico -, tipo de droga do stent farmacológico, lacunas no stent, ruptura e descamação do polímero, fratura do stent e deposição e distribuição não uniforme da droga pela estrutura do stent são exemplos de fatores que predisõem à reestenose. Além dessas classes de fatores, é possível que os fatores inerentes ao operador do procedimento de implante do stent possam estar associados à reestenose, como a expansão incompleta do stent, perda geográfica do stent, reestenose na borda do stent, barotrauma nos segmentos onde o stent está localizado, cobertura incompleta da lesão e implantação de stent farmacológico em um segmento arterial com um coágulo formado (EECKHOUT et al., 2012).

A descoberta da reestenose após o implante de stents metálicos convencionais e a identificação de subgrupos de pacientes com maior risco para reestenose motivaram alguns estudos que apresentaram resultados de possíveis tratamentos capazes de reduzir as taxas de reestenose (SERRUYS et al., 2000; ALBIERO et al., 2000). A técnica da braquiterapia endovascular, na qual um cateter endovascular emissor de radiação é inserido na artéria coronária, foi investigada clinicamente. Apesar de inicialmente ser promissora, esta técnica reduzia as taxas de reestenose de maneira dose-dependente, e tardiamente resultou em um aumento do risco de trombose no stent e no efeito de reestenose de borda ou fenômeno “candy-wrapper” - secundária à queda da dose radioativa nas zonas de transição. Esta técnica não tem sido utilizada de maneira ampla na prática clínica.

O advento dos stents liberadores de fármacos (SF), que reduzem a hiperplasia neointimal, aumentou as expectativas da comunidade científica quanto à abolição da reestenose, porém após alguns anos de uso clínico dos SF, está claro que houve uma redução considerável, mas não a abolição completa da reestenose (KIM; DEAN, 2011).

De acordo com Moses et al. (2003), os stents liberadores de fármacos (SF) revolucionaram o cenário da cardiologia intervencionista nos últimos anos. Estes dispositivos determinaram uma redução relativa das taxas de reestenose após intervenção coronariana percutânea (ICP) de até 70-80% devido à ação dos

fármacos inibidores da mitose celular no local do vaso acometido pela aterosclerose. Estes benefícios são mais expressivos em pacientes com alto risco para reestenose, como os portadores de diabetes, de doença renal crônica, de vasos de pequeno calibre e outros (WIN et al., 2007).

Embora os benefícios proporcionados pelos SF na redução da reestenose e da revascularização da lesão alvo sejam incontestáveis, esses dispositivos apresentaram algumas limitações, especialmente os de primeira geração (MCFADDEN et al., 2004). Além disso, os custos relacionados ao seu uso têm sido um fator limitante, principalmente em países em desenvolvimento (NEYT et al., 2009). Por exemplo, no Brasil este tipo de stent não é padronizado no Sistema Único de Saúde, portanto, não está disponível para a maioria da população brasileira (LIMA et al., 2006).

Os stents liberadores de fármacos (SF) custam, em média, entre três a cinco vezes mais do que os stents convencionais. No Brasil, há uma carência em termos de estudos econômicos direcionados à avaliação de custo-efetividade dos SF em comparação com os SC (LIMA et al., 2006). Porém, baseado em dados internacionais, a relação de custo-efetividade do SF em comparação com o SC pode ser considerada economicamente atrativa no primeiro ano, principalmente em pacientes com alto risco para reestenose (EECKHOUT et al., 2012). Em alguns casos, a reestenose em SC é difusa, enquanto nos SF é focal e acredita-se que a injúria excessiva em ambos é tardia, e pode ser devida à distribuição não uniforme da droga ao longo do dispositivo.

Embora a reestenose tenha sido drasticamente reduzida com a utilização de SF, no entanto, estes efeitos benéficos são limitados às custas de uma maior incidência de trombose tardia e muito tardia nos SF de primeira geração. A trombose tardia foi atribuída ao atraso na cicatrização e na presença de suportes descobertos devido à diminuição da endotelização no local de implante do stent (CAMPBELL; CAMPBELL, 2012). A utilização de polímeros permanentes também foi relacionada à inflamação excessiva e à reação de hipersensibilidade. A segunda geração de stents tem reduzido a trombose tardia provavelmente como um resultado das hastes finas e polímeros de melhor qualidade (EECKHOUT et al., 2012). O uso de polímero bioabsorvível também tem sido associado com diminuição da trombose tardia e a redução de revascularização da lesão alvo (WIJNS et al., 2014; EECKHOUT et al., 2012). A reestenose, embora drasticamente reduzida pelos SF no primeiro ano,

aumentou gradualmente com o tempo, tanto nos SF de primeira, quanto nos de segunda geração.

1.1 A reestenose coronariana

As evidências clínicas demonstram que a reestenose intra-stent que ocorre após a angioplastia se apresenta com maior frequência como síndrome coronariana aguda (SCA), sendo a angina instável a forma mais comum, e até 5% dos pacientes apresentam sinais de infarto do miocárdio com elevação do segmento ST (RARTHORE et al., 2010; EECKHOUT et al., 2012). Na maioria das vezes, é difícil diferenciar se a oclusão total do vaso que apresenta isquemia aguda está relacionada à trombose ou à reestenose subtotal com base na apresentação clínica e nos achados angiográficos.

A reestenose representa uma limitação da ICP e, apesar dos SF, ainda ocorre com grande frequência. A tecnologia aplicada aos SF evoluiu consideravelmente nos últimos 10 anos, motivada pela tentativa de correção de problemas relacionados aos SF de primeira geração. Entretanto, ainda existe a necessidade de melhoria dos resultados, assim como a redução dos custos.

1.2 Mecanismo de fisiopatologia da reestenose após implante de stent

A maior compreensão da inflamação na biologia vascular tem sido estabelecida através da pesquisa da aterogênese (ROSS, 1999; LIBBY et al., 2002). Embora o estudo da aterogênese possa servir como uma fonte para construção da compreensão dos mecanismos de reestenose, esses dois modos de lesão vascular e de cicatrização de feridas são claramente distintos. Nos resultados de estudos sobre a fisiopatologia da aterosclerose, um ponto importante é que o ateroma se desenvolve no contexto de células endoteliais disfuncionais, ao passo que a reestenose ocorre após a desnudação endotelial, secundária à lesão coronariana induzida pelo stent (DRACHMAN; SIMON, 2005). Portanto, os componentes celulares e subcelulares nesses processos podem divergir. No entanto, os conhecimentos mecanicistas derivados de um modelo para o outro podem ser aplicados para se desenvolver um entendimento mais completo da resposta vascular à lesão.

Na aterogênese, as primeiras fases são caracterizadas por disfunção endotelial, que é o resultado de estímulos inflamatórios crônicos. Muitos dos fatores de risco cardíaco tradicionais promovem stress metabólico, ambiental e físico, o que perturba a integridade das propriedades naturais do endotélio (ROSS, 1999). Como resultado, as células inflamatórias circulantes, que normalmente funcionam na capacidade de defesa imunológica, são recrutadas para a superfície do endotélio por meio de uma cascata complexa de eventos de sinalização (CYBULSKY; GIMBRONE, 1991).

A aderência inicial e o deslocamento dos leucócitos na superfície endoluminal são mediados pela produção de glicoproteínas, tais como a adesão celular, selectina P e moléculas vasculares-1 (VCAM-1), que são expressas por células endoteliais disfuncionais (DONG et al., 1998; CYBULSKY; GIMBRONE, 1991). A ativação de leucócitos, a adesão e a migração transplaquetária e transendotelial são reguladas por interações com fatores tais como a proteína-1 quimioatratante monocitária (MCP-1). Como resultado, os leucócitos se acumulam na parede arterial. A produção de oxidação da lipoproteína de baixa densidade, a angiotensina II, a interleucina-1 (IL -1) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) induzem a produção de VCAM-1 e MCP-1 pelas células endoteliais, que conduzem ao recrutamento de outros leucócitos, agravando o grau de inflamação e lesão vascular (LIBBY, 2001).

Após a sequência inflamatória inicial, o desenvolvimento da lesão ateromatosa entra em um longo período de inatividade clínica. Durante esse tempo, a lesão cresce e se desenvolve devido à apoptose dos macrófagos e das células T, criando o "núcleo necrótico" (DRACHMAN; SIMON, 2005).

O recrutamento e a proliferação de células do músculo liso leva ao desenvolvimento de uma cobertura fibrosa, que se sobrepõe à lesão e protege o conteúdo do meio circulante e é potencialmente trombótica. Ao longo do tempo, no entanto, a progressão da lesão leva ao desenvolvimento de inflamação mais pronunciada e instabilidade clínica. A produção de um fator estimulante aos macrófagos, IL-1, e citocinas, bem como a liberação de células T, interferon- α , produção de macrófagos e de matriz rica em metaloproteinases, podem levar à degradação da cobertura fibrosa, através da redução da produção de colágeno novo dentro da camada do tecido e degradação acelerada do colágeno existente (LIBBY; SIMON, 2001). Além disso, alguns elementos do processo inflamatório da aterosclerose podem aumentar a trombogenicidade local, como o CD40-ligante, que

pode estimular a produção dos macrófagos de fator tecidual, o que catalisará o fator VIIa, levando à produção e à ativação de trombina com consequente trombose (MACH et al., 1997; HENN et al., 1998).

A fisiopatologia da reestenose apresenta algumas diferenças quando comparada a da aterosclerose. A reestenose angiográfica é uma resposta “exagerada” e é definida como área de estreitamento luminal transversal > 50% da área de stent constituída por um tecido composto por células musculares lisas da camada neoíntima e da matriz composta por proteoglicanos e colágeno (CHAABANE et al., 2013). Alguns estudos afirmam que o tempo de reendotelização e o crescimento da camada neoíntima após o implante do stent são diferentes entre espécies animais. De acordo com Finn et al. (2007) e Virmani et al. (2003), em modelos animais, o pico de crescimento da camada neointimal é constatado 28 dias após o implante de SC. Em seres humanos, esse crescimento é identificado entre 6 a 12 meses.

A monocamada endotelial atua como uma superfície não adesiva para plaquetas e leucócitos e regula o tônus vascular e a fibrinólise. Segundo Padfield et al. (2010), após a injúria endotelial arterial, a cascata de eventos segue a seguinte sequência: em condições de repouso, as concentrações dos precursores de células endoteliais de unidades formadoras de colônia (CE-CFU) circulantes e células progenitoras endoteliais (CPE) circulantes são baixas, particularmente em pacientes com doença aterosclerótica, o implante de stent coronariano empurra a placa obstrutiva para fora do caminho, mas provoca danos no endotélio arterial e subjacente, expondo o colágeno e o fator tecidual, o que desencadeará a ativação plaquetária e a cascata da coagulação resultando em trombose aguda ou sub-aguda.

Na ausência de um endotélio intacto, as plaquetas e os leucócitos formam um complexo local, que se transforma em um infiltrado inflamatório local e segue com a inflamação sistêmica. A resposta vascular causada por intervenção coronária percutânea é bifásica. A resposta precoce consiste de mobilização dos precursores da CE-CFUs envolvendo monócitos angiogênicos e linfócitos. Os precursores da CE-CFU são recrutados para o local da lesão e, em seguida, segregam fatores angiogênicos, estimulando a proliferação e a migração das células endoteliais e a mobilização das células progenitoras endoteliais derivadas da medula óssea para o local da lesão vascular. Durante um período de semanas e meses, as células

progenitoras se proliferam, contribuindo para a efetiva reendotelização e a restauração da homeostase vascular.

De acordo com Mitra et al. (2006) e Inoue et al. (2011), as cascatas celulares em resposta à lesão mecânica vascular, iniciada imediatamente após o implante do stent, pode ser dividida em três fases distintas: uma fase inicial que consiste na ativação de plaquetas e a inflamação, seguida por uma fase intermediária com tecido de granulação que corresponde à migração e à proliferação de células musculares lisas (CML) e uma fase tardia de tecido remodelação.

Na primeira fase, após o implante do stent, as células endoteliais (CE) sofrem lesão parcial ou completa, promovendo a ativação e a agregação das plaquetas, infiltração de leucócitos circulantes e liberação de fatores de crescimento e citocinas, como CD 45; TNF- α ; eicosanóides/prostaglandinas; aminas vasoativas; IL-1; IL-8; E-selectina; VEGFR; Óxido nítrico sintetase endotelial; fator de Von Willebrand; PDGF e outros (MITRA et al., 2006; OTSUKA et al., 2012).

Segundo Kipshidze et al. (2004), após o implante de SC há início do momento de injúria endotelial precoce. A resposta do endotélio mediante o stent pode ser dividida em três fases: lesão endotelial, desnudação do endotélio e a reendotelização, esta última também pode ser chamada de neoendotélio. A resposta humana após o implante de stent coronariano é a destruição parcial da camada de células endoteliais. Após este evento, mesmo com o uso da terapia antiplaquetária e heparina, há o início da formação de uma fina camada de trombo que cobre a superfície vascular e o stent.

A cobertura completa da camada neointima por células endoteliais vasculares ocorre várias semanas após o implante do stent. Em modelos animais, vários estudos têm demonstrado que a disfunção no processo de regeneração das células endoteliais após a implantação do stent promove a mobilização de células progenitoras endoteliais derivadas da medula óssea para acelerar a reparação vascular através da rápida reendotelização e atenua a formação neointimal (VIRMANI et al., 2003; PADFIELD et al., 2010).

A contribuição das células progenitoras endoteliais circulantes não foi bem compreendida em pacientes submetidos ao implante de stent, embora a mobilização destas células tenha sido demonstrada no local onde o stent foi implantado em desvios arteriovenosos e um aumento das células progenitoras endoteliais circulantes foi relatado com o uso de estatinas (PADFIELD et al., 2010).

Na fase de constituição do tecido de granulação, as CE se proliferam e migram ao longo das áreas feridas enquanto as CML e os macrófagos substituem o coágulo de fibrina por tecido de granulação. O tecido vascularizado recém formado inclui macrófagos, que são responsáveis pela fagocitose de fragmentos celulares, bem como a secreção de fatores de crescimento, citocinas e quimiocinas. Os macrófagos aumentam a resposta inflamatória, mas, juntamente com as plaquetas e as CE, secretam fatores de crescimento. Estes fatores de crescimento incluem o fator de crescimento de fibroblastos (FGF), fator de crescimento semelhante à insulina (IGF), fator de crescimento transformante beta (TGF- β), fator de crescimento derivado das plaquetas (PDGF) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), todos facilitam a proliferação das CML e CE, que são necessárias para curar a superfície lesionada.

Na fase de remodelamento do tecido, ocorre a modificação das CML, que são ativadas por citocinas e fatores de crescimento produzidos pelo endotélio e camada média lesionados, plaquetas e células inflamatórias infiltradas, bem como pelas forças de compressão, geradas ao longo da parede do vaso, com baixo cisalhamento induzido pela presença do stent. As CML sofrem alterações complexas, que englobam a migração e a proliferação no sentido da camada íntima. A proliferação de células musculares lisas na camada média e subsequente migração para a camada íntima requer a transição de células musculares lisas de um fenótipo contrátil para um sintético com a eventual deposição de matriz extracelular (MEC) na camada íntima (CAMPBELL; CAMPBELL, 2012; ROSS, 1999).

A MEC desempenha um papel importante, uma vez que interage com células que influenciam na adesão, migração, proliferação e remodelamento da lesão. Na primeira fase de formação da matriz, há a formação de "matriz provisória", que é formada pelas proteínas do plasma, como a fibrina, o fibrinogênio e a fibronectina (WIGHT; POTTER-PERIGO, 2011). A MEC permite a adesão às células inflamatórias, como os macrófagos e células musculares lisas para começar o processo de reparação. As CML secretam ácido hialurônico e proteoglicanos, especialmente o versicam que interage e estabiliza a fibrina enriquecida com MEC.

Esta matriz permite que mais células musculares lisas estejam ligadas ao mesmo tempo em que se proliferam, prendendo as células inflamatórias que libertam as metaloproteinases de matriz (MMPs), que digerem o hialuronano de modo que

uma produção de matriz permanente de colágeno tipo I e III promova a cicatrização completa da lesão com eventual fibrose. O colágeno também afeta negativamente as PMEs, prendendo a proliferação e, eventualmente, resultando em forças contráteis alteradas com eventual apoptose das CML e perda celular. Esses processos estão intimamente relacionados.

1.3 Mecanismo de redução da reestenose intra stent

Antes da introdução dos SF, diversos agentes farmacológicos orais foram utilizados em estudos com animais com a finalidade de reduzir a reestenose, mas todos falharam quando testados em humanos (CHAABANE et al., 2013). O conceito de terapia medicamentosa para reduzir a reestenose começou na era da angioplastia com balão. Acreditava-se que trombos e plaquetas eram responsáveis pela proliferação das CML por meio da liberação de PDGF. Como resultado, várias drogas antiplaquetárias e agentes antitrombóticos foram testados, mas não houve êxito em humanos, embora os estudos anteriores com animais apresentassem sucesso.

Em artérias normais, as CML estão em repouso com uma taxa muito baixa de proliferação das PMEs, que também encontram-se em repouso e não proliferativas na fase G₀, no entanto, quando ocorre uma lesão, há um desequilíbrio entre os fatores estimulantes de crescimento, citocinas (EG, PDGF, interleucina-1, -6, e fator de necrose - alfa) e fatores de inibição tumoral (óxido nítrico derivado do endotélio, proteoglicanos de sulfato de heparina). Isto provoca a ativação das CML, isto é, a mudança de uma fase de CML contrátil para um fenótipo quiescente sintético.

Uma vez ativadas, as células musculares lisas (CML) entram no ciclo de divisão celular, que é dividido em cinco fases: G₀, G₁, S, G₂ e M. Um número de fatores de crescimento como o FGF -2, o fator de crescimento epidérmico, PDGF e IGF são responsáveis pelo início da proliferação de células musculares lisas vasculares (VSMC) através dos receptores da tirosina quinase (TKR). O receptor tirosina quinase também pode ativar a quinase (MAPK) proteína mitogenativada. Portanto, o ciclo celular é a via final comum que pode promover replicação celular em alta taxa e gerar a hiperplasia da camada íntima após a lesão vascular.

1.4 O mecanismo de inflamação e a intervenção coronariana percutânea

Embora os estudos iniciais quanto à reestenose pós-angioplastia estabelecessem a relação entre a proliferação neointimal, a trombose e o remodelamento negativo, a importância da inflamação só foi reconhecida recentemente. Após a intervenção coronariana, há uma desnudação da superfície endotelial, que inicia uma cascata de eventos, promovendo o recrutamento de leucócitos, a adesão e a participação na resposta de cura à lesão vascular. Conforme os resultados de Libby et al. (1992), a desnudação endotelial promove a adesão das plaquetas à superfície da lesão na parede arterial e subsequente deposição de fibrina. A interação entre as plaquetas e os eucócitos é mediada por meio da expressão da P-selectina; os leucócitos se anexam livremente e percorrem ao longo do tapete de plaquetas que reveste a superfície abluminal desnudada. Segundo Welt e Rogers (2002), os leucócitos aderem mais firmemente e migram através das plaquetas por meio de uma sequência de MAC-1, mediando a sequência de eventos, o que promove a inflamação progressiva da parede arterial.

As interações entre plaquetas e leucócitos desencadeiam uma cascata de eventos que promovem a inflamação: a ativação de neutrófilos é estimulada; a expressão celular de moléculas de adesão é regulada positivamente; os sinais químicos são lançados e aumentam a ativação de integrina e a síntese de quimiocina é aumentada. De acordo com Drachman e Simon (2005), os estágios iniciais da inflamação são caracterizados pela produção de moléculas de adesão intracelular-1 (ICAM -1), VCAM-1 e TNF- α , em fases posteriores, a elevação da classe II do complexo principal de histocompatibilidade (MHC) pode indicar uma reação crônica, imunologicamente mediada em resposta à lesão vascular. Em relação a este evento, a interação entre plaquetas e leucócitos pode ser vista na fase da resposta inflamatória à intervenção endovascular percutânea. As terapias direcionadas para interromper esse evento podem atuar na prevenção da reestenose.

A reação inflamatória que ocorre após a injúria arterial promovida pelo implante de stents é um fator crítico que influencia a extensão da resposta neointimal. A persistência da resposta inflamatória durante 90 dias tem forte associação com os níveis aumentados de espessura neointimal, além do risco de trombose tardia do stent e reestenose a longo prazo.

De acordo com os resultados de um estudo realizado por Farb et al. (2004), foi demonstrado que as lesões reestenóticas apresentam um número elevado de células inflamatórias crônicas quando comparadas às lesões não-reestenóticas. A análise histopatológica da reestenose intra-stent, envolvendo amostras colhidas por aterectomia direcional no momento da reintervenção, apresentou a semelhança entre SC e SF, isto é, quase exclusivamente constituída de proteoglicanos ricos em células do músculo liso e áreas com fibrolipídeos ricos em colágeno e fibras reticulares (VAN BEUSEKOM et al., 2007; CHIEFFO et al., 2009).

Um processo de reestenose imaturo pode ser evidenciado pelas diferenças nos fenótipos das células dos músculos lisos. Entretanto, esta disparidade fenotípica pode ser encontrada em alguns tipos de SF quando comparados com SC, independente do grau de maturidade do tecido que compõe a reestenose. O tecido fibrinóide é um indicativo de resposta inflamatória persistente e cura incompleta; também foi avaliado com SF (JONER et al., 2006; FINN et al., 2005; FINN et al., 2007; FINN et al., 2009; FARB et al., 2003) e implica no risco subsequente de trombose tardia (FINN et al., 2007).

Sabe-se que os SF são revestidos com polímeros que fixam as drogas antiproliferativas, como o paclitaxel e os fármacos da família limus. Os mecanismos de ação e as causas da resistência a essas drogas estão bem documentados na literatura em oncologia e podem estar presentes em indivíduos geneticamente predeterminados ou podem ser adquiridos após a exposição à citotoxicidade do fármaco (RICHARDSON; KAYE, 2005; HUANG; HOUGHTON, 2001).

O chamado "programa de expressão do gene da resistência à droga", descrito para a resistência de paclitaxel a partir da literatura em oncologia, exemplifica melhor as vias complexas envolvidas na etiologia de resistência à droga. Os genes que são expressos pelas células contribuem para a resistência da droga quer em células geneticamente predeterminadas ou preparadas para expressão após o insulto citotóxico ou após a exposição ao fármaco (RICHARDSON; KAYE, 2005).

Segundo Van Der Giessen et al. (2001) e Thom et al. (2006), estes genes podem operar na via convencional, que são bem conhecidas, a entrega e o metabolismo da droga, a regulação da apoptose e a reparação do DNA, ou através da regulação temporal, ou seja, a pró-atividade anti-apoptótica do gene, isto é, a sobrevivência das vias de sinalização celular destes produtos de genes após exposição à droga. Como exemplos, os polimorfismos em genes que codificam

proteínas ou mTOR envolvidas no metabolismo do paclitaxel ou sirolimus foram mostrados para conferir resistência à droga, tanto *in vitro* como *in vivo*.

A diminuição da ligação do sirolimus com a mTOR devido às mutações no FK-B12, na mTOR e nas moléculas efetoras desta última, podem conferir resistência ao sirolimus. A possibilidade de resistência à droga é um mecanismo de reestenose em potencial. As tentativas fazem com que as dosagens de sirolimus aos pacientes com predisposição à reestenose *intra-stent* sejam maiores na tentativa de ultrapassar a resistência à droga e distribuir quantidades crescentes de droga no local de implantação do *stent*.

As camadas do polímero nos SF são utilizadas como reservatórios de fármacos e as películas externas não são revestidas de droga para permitir a cinética de liberação da droga. Os SF de primeira geração são compostos de uma plataforma de aço inoxidável revestido com uma base constituída por 67% de polímeros acetato de vinil polietileno (PEVA) e 33% de Metacrilato de poly n-butil (PBMA) combinado com os fármacos da família *limus*. Uma camada de acabamento PBMA livre de drogas é aplicada sobre a combinação droga-polímero para controlar a cinética de liberação da droga. Alguns *stents* consistem em uma plataforma de aço inoxidável com polímero combinada com paclitaxel sem um iniciador ou camada de acabamento (EECKHOUT et al., 2012).

O estudo OSIRIS investigou a administração de altas doses de sirolimus por via oral para pacientes com reestenose refratária e demonstrou uma correlação significativa entre o nível de concentração de sirolimus no sangue e as novas taxas de perda luminal. Os pacientes receberam uma dose de sirolimus via oral durante 7 dias por um curto período e não foi esclarecido se estes resultados seriam mantidos em longo prazo de seguimento (HAUSLEITER et al., 2004).

Foi relatado informalmente que o Sirolimus foi administrado durante 30 dias após a angioplastia com balão para tratamento da lesão reestenótica, teoricamente na tentativa de cobrir a lesão no período seguinte à angioplastia, podendo reduzir a reestenose em casos de reestenose refratária (TEIRSTEIN, 2010).

O Sirolimus, também chamado de rapamicina, é um fármaco utilizado como imunossupressor. É uma lactona macrocíclica produzida por organismos da espécie *Streptomyces hygroscopicus*. O fármaco inibe a ativação e a proliferação das células T no passo seguinte a IL-2 e outros receptores de crescimento da célula T (HAUSLEITER et al., 2004). A ativação dos linfócitos T obedece à seguinte

sequência: os antígenos ativam as células dendríticas, que começam a produzir coestimuladores, como as proteínas B7, na superfície celular. As células dendríticas internalizam os antígenos, amadurecem e migram para as zonas de células T, nos linfonodos. Estas células apresentam os antígenos ligados às moléculas do MHC e também expressam coestimuladores que podem fornecer segundos sinais para as células T novas. Além da função de apresentar antígenos, as células dendríticas expressam coestimuladores, como as proteínas B7-1 e B7-2, que fornecem os “segundos sinais” para ativação das células T, secretando citocinas, como a interleucina-12 (IL-12), que estimula a diferenciação das células T (ABBAS et al., 2011).

Quando uma célula T naíves específica reconhece o antígeno, na forma de complexos peptídeo-MHC, e recebe sinais através da interação da proteína B7 com receptores coestimuladores da célula T, aquele linfócito naíve é ativado. As células que receberam os “segundos sinais”, através de receptores coestimuladores, podem produzir citocinas e expressar receptores de citocinas. A interleucina – 2 (IL-2) fornece sinais autócrinos para as células T ativadas, levando à expansão dos clones específicos para o antígeno. A IL-2 e outras citocinas produzidas pelas células apresentadoras de antígenos (APCs) também estimulam a diferenciação das células T em células efetoras e de memória, ativando os macrófagos e linfócitos B, enquanto as células T CD8+ se diferenciam em CTLs, que desenvolverão grânulos citoplasmáticos compostos por proteínas, como a granzimas e a perforina, cuja função é destruir outras células. Além desta função, as CTLs são capazes de produzir citocinas como o IFN- γ , linfotóxina e TNF, que ativam os fagócitos e induzem a inflamação. Este fármaco, para exercer seu efeito terapêutico, deve ligar-se com a imunofilina ou FKBP-12 formando assim um complexo que tem a capacidade de inibir a cinase dos mamíferos que é importante para a continuidade do ciclo celular, parando na fase G1 para S (ABBAS et al., 2011; CRUVINEL et al., 2010).

Segundo Almeida et al. (2005), o paclitaxel é um agente que estabiliza os microtúbulos, prevenindo a despolimerização, resultando na inibição da dinâmica normal de reorganização da rede de microtúbulos essencial para as funções celulares. O paclitaxel também induz a formação anormal ou feixe de microtúbulos durante o ciclo celular e múltiplos ásteres de microtúbulos, bloqueando a fase G2 da mitose (figura 1).

Historicamente, a tentativa de redução da reestenose por administração de fármacos via oral não obteve sucesso (TARNOW-MORDI, 1993). Contudo, os conhecimentos fisiopatológicos da época não permitiam o entendimento do importante papel de migração celular e mudança fenotípica das células musculares lisas, assim como a modulação imunoinflamatória (LIBBY et al., 2006).

Sabe-se que o processo de divisão celular, ou mitose, é contínuo e se divide em fases: prófase, metáfase, anáfase, telófase e citocinese. Alguns autores costumam citar uma quinta fase – a *prometáfase* – intermediária entre a prófase e a metáfase. Na prófase, os cromossomos começam a ficar visíveis devido à espirilação. O nucléolo começa a desaparecer. Organiza-se em torno do núcleo um conjunto de fibras, os microtúbulos, originados a partir dos centrossomos, constituindo o chamado fuso de divisão, ou fuso mitótico. Embora os centríolos participem da divisão, não é deles que se originam as fibras do fuso. Na mitose em célula animal, as fibras que se situam ao redor de cada par de centríolos opostas ao fuso constituem o áster. O núcleo absorve água, aumenta de volume e a carioteca se desorganiza. No final da prófase, curtas fibras do fuso, provenientes dos centrossomos, unem-se aos centrômeros. Cada uma das cromátides-irmãs fica ligada a um dos polos da célula (NUSBAUM, 2012; UZINIAN; BIRNER, 2008).

A formação de um novo par de centríolos é iniciada na fase G1, continua na fase S e na fase G2, onde a duplicação é completada. No entanto, os dois pares de centríolos permanecem reunidos no mesmo centrossomo. Ao iniciar a prófase, o centrossomo divide-se em dois e cada par de centríolos começa a dirigir-se para polos opostos da célula que entrará em divisão. Na metáfase, os cromossomos atingem o máximo em espiralação, encurtam e se localizam na região equatorial da célula. No final da metáfase e início da anáfase ocorre a duplicação dos centrômeros. Na anáfase, as fibras do fuso começam a encurtar. Em consequência, cada lote de cromossomos-irmãos é puxado para os polos opostos da célula. Na telófase, os cromossomos iniciam o processo de desespirilação. Os nucléolos reaparecem nos novos núcleos celulares. A carioteca se reorganiza em cada núcleo-filho. Cada dupla de centríolos se encontra no local definitivo nas futuras células-filhas. Na Citocinese, há a partição da célula animal em duas cópias, de fora para dentro, isto é, como se a célula fosse estrangulada e partida em duas (citocinese centrípeta). Há uma distribuição de organelas pelas duas células-irmãs (NUSBAUM, 2012; UZINIAN; BIRNER, 2008).

A célula que não está replicando apresenta-se na fase G_0 . Nesta fase, o DNA apresenta-se enovelado, com atividade nuclear baixa. Este estágio pode ser modificado para a fase G_1 , onde há a preparação da célula para a multiplicação, com a produção de constituintes celulares que serão essenciais para a nova célula que será gerada, além da preparação para a síntese de DNA, que ocorrerá na fase S (ALMEIDA et al., 2005).

Nas fases G_1 e S existem diversos mecanismos reguladores que irão afetar a multiplicação celular. Os fatores de crescimento, como os produtos de oncogenes, ativam a multiplicação celular, enquanto os controles de retroalimentação são inibidores da multiplicação celular. Estes controles são, por exemplo, genes supressores tumorais, que detêm a replicação celular quando há dano no DNA, para que ele seja reparado. As interleucinas, dentre outras substâncias, também afetam a replicação celular. Outro mecanismo regulador é a apoptose, morte celular programada (ZHOU; ELLEDGE, 2000; ALMEIDA et al., 2005).

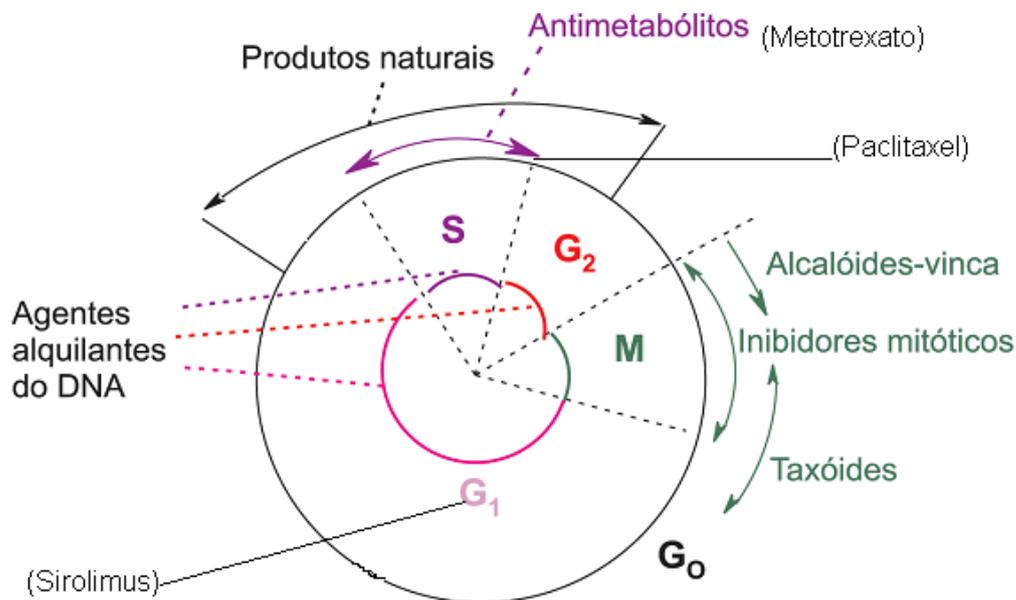


Figura 1. Atividade dos agentes quimioterápicos antineoplásicos, dependendo da fase do ciclo celular. Adaptado de Almeida et al., 2005.

Na fase G_2 há a síntese de componentes para a mitose (divisão celular com manutenção do número de cromossomos específicos da espécie) como a produção do fuso mitótico, que é feita na fase M. Após a divisão do material nuclear há a

citocinese (que é a separação da célula mãe, formando as duas células filhas com suas organelas e demais constituintes celulares), finalizando o ciclo de replicação celular, retornando à fase G_0 (UZINIAN; BIRNER, 2008). A célula tumoral ou transformada não finaliza o ciclo de replicação celular, ou seja, não retorna à fase G_0 , assim passa da fase M para nova fase G_1 (ALMEIDA et al., 2005).

O Metotrexato (MTX) é um antagonista do folato que atua no bloqueio da divisão celular, mais especificamente bloqueando a fase S do ciclo celular, além de ter um efeito anti-inflamatório bastante expressivo. Inicialmente, o MTX foi desenvolvido para o tratamento do câncer, porém, esta droga tem sido amplamente utilizada no tratamento das doenças reumáticas, principalmente artrite reumatóide (AR) e psoríase (CUTOLO et al., 2001).

De acordo com o primeiro estudo brasileiro sobre recomendações baseadas em opiniões de especialistas e evidências científicas sobre o uso do MTX em pacientes com AR e outras doenças reumáticas, não há uma uniformidade quanto a melhor via de administração, quanto a segurança do uso deste medicamento a longo prazo, a eficácia da aplicabilidade em outras doenças além da AR, a dose de manutenção e as indicações para suspensão do uso do MTX. Porém, algumas revisões sistemáticas da literatura sugerem um alto percentual de concordância sobre as informações quanto ao uso do MTX no tratamento da AR, baseadas nas evidências sobre o tema (PEREIRA et al., 2009).

O metotrexato (MTX) pode ser administrado por via parenteral ou por via oral, sendo bem absorvido pelo trato gastrointestinal, em baixas doses. O mecanismo de ação deste fármaco fundamenta-se na inibição competitiva da enzima redutase do ácido fólico. O ácido fólico deve ser reduzido ao ácido tetra-hidrofólico por essa enzima no processo de síntese de DNA e de duplicação celular. O MTX inibe a redução do ácido fólico e interfere na reprodução do tecido celular. As células de tecidos ativamente proliferativos são mais sensíveis aos efeitos do MTX como: as células de tumores malignos, as ósseas, as fetais, as do epitélio dérmico, da mucosa gastrointestinal e da bexiga (LIMA, 1995).

Os efeitos colaterais iniciais são geralmente náuseas, vômitos, ulcerações mucosas e diarreia. Esses efeitos são menos frequentes quando a via de administração é parenteral, ou quando a dose por via oral é fracionada. Juntos com dermatite e alopecia, esses efeitos podem ser considerados como leves e, na maioria dos casos, não requerem redução na dose do metotrexato (FABBRI et al.,

1996; TSAI et al., 1993). Efeitos colaterais graves com o uso do metotrexato em baixas doses são menos frequentes. Após administração prolongada, a ocorrência de pneumonite intersticial aguda tem sido descrita, predominantemente em pacientes com artrite reumatóide. Doença pulmonar pré-existente tem sido sugerida como fator precipitante, e provas de função pulmonar, incluindo a medida da capacidade de difusão pelo monóxido de carbono, são mandatórias antes do início do tratamento com o metotrexato. Segundo Tsai et al. (1993), foi relatado um caso de pneumonite por metotrexato usado para tratamento de asma. Infecções esporádicas por *Pneumocystis carinii* têm sido relatadas (KUITERT; HARRISON, 1991). Também foi descrito um caso de asma induzida pelo metotrexato em um paciente com artrite reumatóide (JANES et al., 1991), e um episódio de pneumonia fatal por varicela em um paciente asmático em uso de metotrexato e corticosteróide (GATNASH; CONNALLY, 1995).

A maioria dos estudos preconiza que a dose inicial mínima do MTX deve ser de 10mg por semana e a dose máxima não deve ultrapassar 25mg por semana. Os primeiros estudos que tiveram o objetivo de fundamentar a dose ideal para uso do MTX na artrite reumatóide (AR) comprovaram que as doses entre 12,5-20 mg/semana apresentaram efeito significativamente maior do que o placebo na contagem de articulações dolorosas, na avaliação da dor e no estado global, enquanto a dose de 5-10mg/semana mostrou efeito significativo mais elevado do que o placebo apenas nas duas últimas variáveis (FURST et al., 1989). Outro estudo mostrou que o aumento gradativo da dose em 5mg a cada três meses repercute em menos efeitos adversos quando comparado ao aumento de 5mg por mês (VERSTAPPEN et al., 2007).

Quanto à segurança do medicamento, os estudos evidenciaram que os pacientes com AR que receberam MTX a longo prazo apresentaram um risco de doença cardiovascular significativamente reduzido com menor mortalidade (VAN HALM et al., 2006; CHOI et al., 2002), porém, os participantes devem ser monitorados na frequência adequada e o uso de álcool é desencorajado durante o tratamento. Além disso, outros autores enfatizam que o uso de MTX a longo prazo não possui associação com infecções graves. O monitoramento adequado deve ser realizado no período pré-tratamento e, após o início do tratamento, no intervalo entre 4 a 12 semanas. Durante a avaliação, é pertinente acompanhar as dosagens das enzimas hepáticas (AST e ALT), creatinina, hemograma e, em alguns casos, biópsia

hepática. Além disso, outras manifestações podem ocorrer através do uso do MTX caso não haja o devido monitoramento como: toxicidade pulmonar devido ao baixo clearance de creatinina, hipoalbuminemia, trombocitopenia e toxicidade pulmonar. Sabe-se que o MTX tem um alto índice de toxicidade e alguns estudos sugerem que a suplementação com ácido fólico a esta terapia é útil para redução desta possível complicação. O uso deve ser de 10 mg por semana, de preferência nos dias seguintes ao uso do MTX.

O tratamento percutâneo com implante de stents representa uma terapêutica amplamente utilizada na DAC. Os stents liberadores de fármacos já demonstraram sua eficácia e segurança neste cenário. Porém, o gasto com estes dispositivos muitas vezes tem limitado sua ampla utilização, principalmente em países subdesenvolvidos ou em desenvolvimento. O conhecimento atual sobre reestenose evidencia a importância da mitose celular neste processo e fármacos que bloqueiam esta divisão celular têm sido capazes de reduzir a hiperplasia neointimal. O MTX é uma droga que bloqueia a divisão celular quando administrado por via oral e tem sido utilizado em alguns cenários clínicos com segurança. O custo do MTX não é alto e sua disponibilidade não é universal. Portanto, avaliar se o MTX é seguro no contexto de pacientes com DAC grave submetidos a implante de stents convencionais e ter sugestões do eventual impacto desta droga na reestenose são objetivos relevantes do presente estudo. Uma vez que esses objetivos sejam alcançados, isto poderá permitir continuidade na linha de pesquisa, por potencial contribuição na evidência da eficácia clínica e segurança neste cenário. Tendo em vista o baixo custo da droga, uma ampla utilização, até mesmo em países com limitações financeiras, será universalmente aceita.

A exemplo de estudos clínicos de fase 1, que já demonstraram o perfil de segurança e permitiram a realização de estudos de fase 2 e 3, que confirmaram a segurança da droga e estabeleceram suas indicações clínicas, o presente estudo também tem como desfecho a apresentação do perfil de segurança do MTX na redução da reestenose coronariana.

2 HIPÓTESE

O MTX administrado por via oral é seguro até 25 mg por semana em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e associado à redução da frequência de reestenose angiográfica em pacientes submetidos a implante de stents convencionais.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar a segurança do MTX em pacientes com DAC grave e submetidos a ICP com stents convencionais, gerando eventual hipótese de redução de hiperplasia neointimal.

3.2 Específicos

- Caracterizar os pacientes quanto aos aspectos clínicos, sócio-demográficos e angiográficos coronariano;
- Mensuração e descrição dos efeitos adversos relacionados ao MTX;
- Avaliar a perda tardia do diâmetro de artéria coronariana de pacientes tratados por angioplastia com implante de stent convencional que tenham usado MTX;
- Descrever a frequência de reestenose angiográfica e clínica em pacientes tratados por angioplastia com implante de stent convencional que tenham tomado MTX.

4 MÉTODO

4.1 Tipo de estudo

Trata-se de um ensaio clínico de fase II aberto, prospectivo, não randomizado, descritivo.

4.2 Local do estudo

O estudo foi realizado no laboratório de hemodinâmica do Hospital das Clínicas de Pernambuco (HC) da UFPE.

4.3 Amostra

A amostra foi constituída por 16 pacientes com diagnóstico clínico de DAC e indicação clínica de ATC com implante de stent. Os pacientes foram incluídos no estudo de acordo com critérios de inclusão e exclusão descritos adiante.

Ressalta-se que estudos anteriores com dispositivos liberadores de fármacos que bloqueiam a mitose foram realizados incluindo a participação de 15 a 50 pacientes (ARRUDA et al., 2003).

4.4 Critérios de inclusão

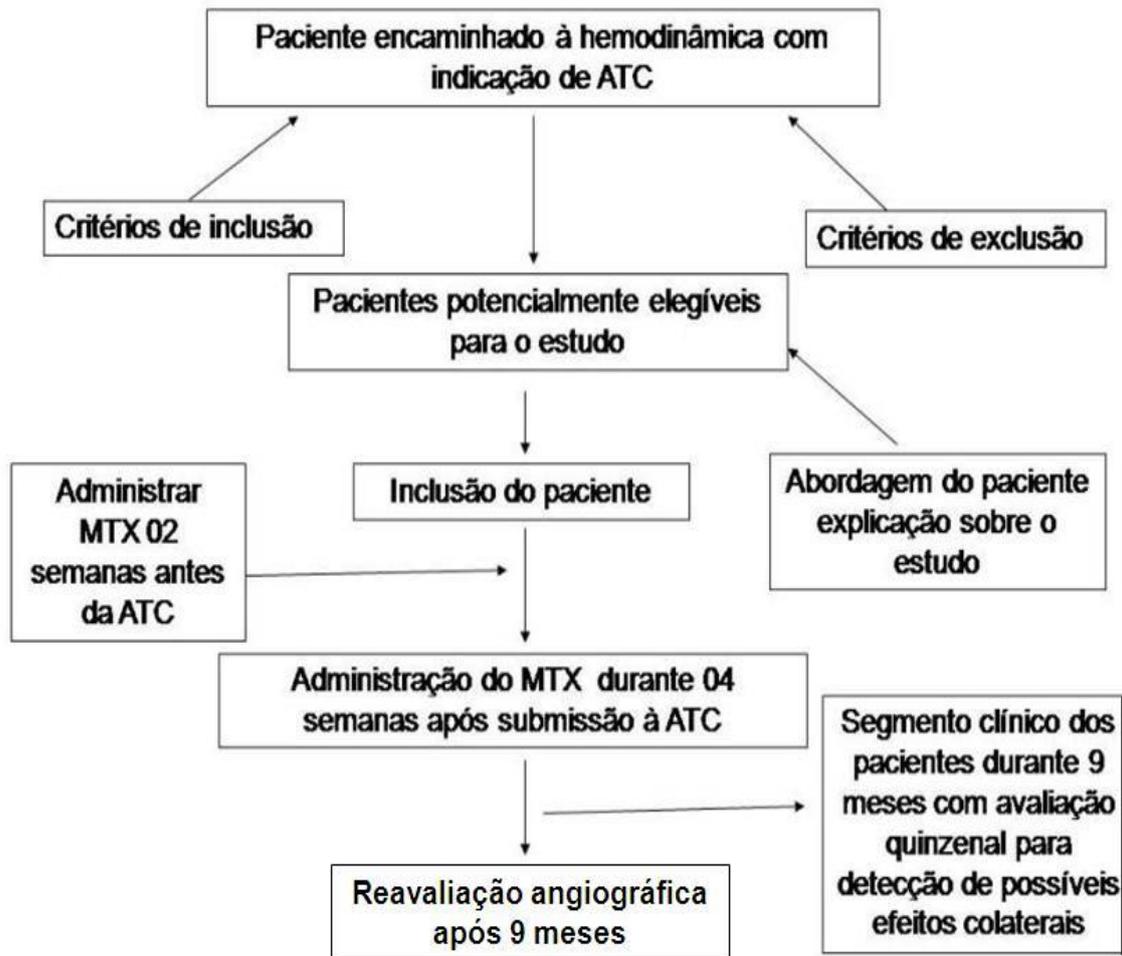
Critérios de inclusão: idade > 18 anos, lesão “de novo” (ou seja, lesão não reestenótica) > 70%, e um dos seguintes critérios: diabetes mellitus, diâmetro de referência de vaso alvo < 2.5 mm, doença renal crônica > estágio III associada a diâmetro de referência de vaso alvo < 2.75 mm.

4.5 Critérios de exclusão

Foram excluídos do estudo pacientes que apresentaram contra-indicações absolutas ao uso do MTX, como pacientes alcoólatras, portadores de pneumopatia grave, hepatopatia grave e doença renal ou que apresentem qualquer

impossibilidade de serem submetidos à nova cinecoronariografia 9 meses após a ICP.

4.6 Fluxograma do estudo



4.7 Definição das variáveis

As variáveis socioeconômicas, clínicas e angiográficas de interesse do estudo foram definidas pelos pesquisadores baseados em estudo prévios. O uso do MTX foi considerado como variável independente. Foi considerada como variável dependente a reestenose clínica e reestenose angiográfica e o Diabetes Mellitus foi considerado como variável confundidora.

- Sexo – Feminino e Masculino;
- Faixa etária – Descrita como média e desvio padrão
- Escolaridade – Analfabeto, ensino elementar, ensino fundamental, ensino médio e superior;
- Cor da pele – Foi categorizada em: brancos e não brancos. Cada entrevistado escolheu o grupo que melhor representava a sua cor de pele;
- Região em que reside – Região metropolitana do Recife (RMR) e fora da Região metropolitana do Recife;
- Renda mensal – até um salário mínimo (S.M.) e > 1 SM;
- Tipo de moradia – alvenaria e outros – Madeira, pau a pique e taipa;
- Fatores de risco para doença cardiovascular (DCV) – Hipertensão, Diabetes Mellitus, Dislipidemia, Sedentarismo ou qualquer outro fator de risco que o paciente já portava antes da coleta de dados, como história familiar, etilismo, tabagismo e sedentarismo;
- Comorbidades prévias – Doenças que o paciente já portava antes da coleta de dados;
- Extensão de lesões arteriais – lesão discreta para obstruções arteriais entre 30-49%; lesões moderadas para obstruções arteriais entre 50 a 69% e lesões graves para obstruções arteriais > ou = a 70%;
- Complicações referentes aos procedimentos – Hematomas; Reações alérgicas; Pseudoaneurisma; Infecções; Infarto Agudo do Miocárdio (IAM); Recrudescência de Angina; Parada Cardiorrespiratória; Hipotensão; Equimose; Fístula arteriovenosa; Acidente Vascular Cerebral (AVC) e Óbito.
- Complicações referentes ao uso do metotrexato – Descamação da pele; Ressecamento das mucosas; Alopecia; Diarreia.
- Locais de lesão arterial – Artéria coronária direita (ACD) com os ramos descendente posterior (DP) e Ventricular Posterior (VP); Artéria circunflexa (ACX) com os ramos marginais; Artéria descendente anterior (ADA) com o ramo diagonal e o Tronco coronariano esquerdo (TCE).
- Reestenose clínica – Sintomas ou equivalentes anginosos, IAM ou teste isquêmico com isquemia moderada ou severa.
- Reestenose angiográfica – Estenose angiográfica maior ou igual a 50%

4.7.1 Angiografia coronariana quantitativa (ACQ)

Para numeração dos segmentos coronários, foi utilizado o sistema de numeração do Coronary Artery Surgery Study (CASS), que aloca um número específico a cada segmento vascular coronário e seus ramos vasculares. O segmento coronário a ser analisado será selecionado, definindo o ponto inicial e o desfecho do segmento arterial. O procedimento de detecção de contornos é realizado em duas interações relativas a um modelo. Na primeira interação, a via detectada é o modelo. Para a detecção dos contornos foram definidas linhas de exame perpendiculares ao modelo. Para cada ponto ou pixel ao longo de uma linha de exame, o valor de potência da borda correspondente (alteração local no nível de brilho) foi computado como a soma ponderada dos valores correspondentes da primeira e da segunda funções derivadas aplicadas aos valores de brilho ao longo dessas linhas de exame.

4.8 Instrumento para coleta de dados

Após a definição das variáveis do estudo, foi elaborado um roteiro para a coleta de dados (ANEXO 1), que foi aplicado pelos pesquisadores individualmente para cada paciente, após assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE).

4.9 Procedimentos éticos

O projeto foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), através do parecer N° 325/11, conforme a Declaração de Helsink e Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde e Ministério da Saúde que dispõem sobre pesquisa envolvendo seres humanos. Cada paciente que aceitou participar da pesquisa assinou previamente o TCLE.

4.9.1 Processamento e análise de dados

Foi realizada uma análise estatística descritiva para expor os resultados obtidos. A apresentação das variáveis mensuradas foi feita através de tabelas. Para análise das variáveis foi construído um banco de dados no programa Excel versão 2003, que foi exportado para o programa SPSS versão 15. Para as variáveis numéricas, foram aplicados os cálculos de média e desvio padrão. Para as variáveis categóricas, foram calculados valores percentuais.

5 RESULTADOS

Houve predomínio de homens dentre os 16 pacientes recrutados. Os pacientes estudados apresentaram média de idade correspondente a 62,4 anos e a maioria dos pacientes recrutados havia estudado até o ensino elementar. A tabela 1 demonstra as demais características clínicas e sociodemográficas.

Tabela 1 – Características sociodemográficas.

Características sociodemográficas	N	%
Sexo		
Masculino	11	68,7
Feminino	5	31,3
Escolaridade		
Analfabeto	2	12,5
Ensino elementar	11	68,7
Ensino fundamental	3	18,8
Cor da pele		
Branca	9	56,2
Não branca	7	43,8
Renda Mensal		
Até 1 Salário Mínimo (SM)	12	75,0
Maior que um Salário Mínimo (SM)	4	25,0
Região em que reside		
RMR	8	50,0
Fora da RMR	8	50,0
Tipo de Moradia		
Alvenaria	15	93,8
Outro	1	6,2

RMR: Região metropolitana do Recife.

Quanto aos fatores de risco para DAC, os mais frequentes foram a Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e Diabetes Mellitus (DM); outros fatores de risco e antecedentes pessoais encontram-se na tabela 2.

Tabela 2 – Fatores de risco e antecedentes pessoais do pacientes

Fatores de Risco e Comorbidades	N	%
HAS	15	93,8
DM	7	43,8
Etilistas e Ex-etilistas	4	25,0
Tabagistas e Ex-tabagistas	8	50,0
Dislipidemia	13	81,3
Sedentarismo	11	68,8
IAM prévio	8	50,0
Angina Prévia	14	87,5
História Familiar	13	81,3

HAS: Hipertensão arterial sistêmica; DM: Diabetes Mellitus; IAM: Infarto agudo do miocárdio.

Quanto ao número de lesões e vasos acometidos, a artéria descendente anterior apresentou o maior número de estenoses. Observou-se que havia 47 lesões, sendo 21 moderadas e 26 graves; outras informações são apresentadas na tabela 3.

Tabela 3 – Distribuição dos locais de lesões arteriais moderadas e graves.

Locais de Lesão Arterial	Quantidade de Lesões Moderadas (> ou = a 50%)	Quantidade de Lesões Graves (> ou = a 70%)	Total
ADA	9	7	16
ACX	8	7	15
ACD	2	12	14
TCE	2	0	2
Total	21	26	47

ACD: Artéria coronária direita; ADA: Artéria descendente anterior; ACX: Artéria circunflexa; TCE: Tronco Coronariano Esquerdo

Quanto aos diâmetros e comprimentos dos 16 stents utilizados, conforme tabela 4, o diâmetro médio foi de $3 \pm 0,4$ mm e o comprimento foi de $18,1 \pm 5,9$ mm.

Tabela 4 – Diâmetro e comprimento dos stents implantados

Paciente	Diâmetro do stent	Comprimento do stent
1	3,0	23
2	2,5	23
3	2,5	16
4	2,5	23
5	2,5	13
6	3,5	16
7	3,0	20
8	3,5	19
9	2,5	15
10	2,75	15
11	3,5	18

12	3,5	24
13	3,0	24
14	2,5	18
15	3,0	15
16	3,0	28
Média	3,0	18,1
Desvio padrão	0,4	5,9

Não houve complicações imediatas nem tardias relacionadas à intervenção coronariana percutânea. A prevalência de eventos adversos e efeitos colaterais pelo uso do MTX ocorreu em três pacientes (18,7%), embora tenham sido caracterizadas como complicações não relevantes, ou seja, descamação de pele nas extremidades dos membros superiores, dois pacientes, e o ressecamento da mucosa oral, um paciente. Apesar destas complicações menores, o MTX não foi descontinuado em nenhum paciente. Todas as complicações desapareceram após o término do uso recomendado pelo protocolo do estudo, conforme apresentado na tabela 5.

Tabela 5 – Distribuição dos pacientes avaliados quanto às complicações referentes aos procedimentos de cateterismo e angioplastia e quanto ao uso do Metotrexato.

Complicações	N	%
Complicações da intervenção coronariana percutânea	0	0
Complicações quanto ao uso do metotrexato	3	18,7

Todos os pacientes foram submetidos ao reestudo angiográfico. Nenhum dos pacientes apresentou qualquer tipo de sintoma anginoso ou sofreu qualquer evento coronariano, conforme apresentado na tabela 6. Na análise das angiografias coronarianas, uma paciente apresentou reestenose angiográfica de 80% em terço médio da artéria coronária direita (ACD).

Tabela 6 – Prevalência de reestenose clínica e angiográfica.

Reestenose	N	%
Angiográfica	1	6,2
Clínica	0	0

Além dos resultados acima, outros resultados deste trabalho encontram-se apresentados em forma de artigo, os quais estão dispostos no Apêndice E.

6 DISCUSSÃO

Conforme os dados do Ministério da Saúde através do Sistema de Informações Hospitalares do Sistema Único de Saúde (SIH-SUS) (BRASIL, 2014b), no período de junho do ano de 2013 a junho do ano de 2014, o total de angioplastias coronarianas com Autorização de Internação Hospitalar (AIH) aprovadas e realizadas no Brasil foi de 3.222. O nordeste é a terceira região do país que mais realiza esse procedimento com uma média anual de 30 angioplastias. Segundo o Sistema de Gerenciamento da Tabela de Procedimentos do SUS (BRASIL, 2014c), os valores referentes aos serviços hospitalares e profissionais por cada angioplastia coronariana com implante de stent são, respectivamente, R\$ 988,48 e R\$ 587,24. Portanto, no período de junho do ano de 2013 a junho do ano de 2014, o custo total do SUS com os serviços hospitalares e profissionais totalizaram R\$ 5.076.969,84, além dos gastos com recursos materiais, como a compra de stents e medicamentos.

Sabe-se que a reestenose intra-stent é uma limitação da angioplastia coronariana, que resulta, em parte, da presença permanente desse dispositivo na parede arterial e gera, como consequência, a hiperplasia neointimal e a perda luminal tardia.

A reestenose que ocorre após as intervenções coronarianas percutâneas (ICP) gera um impacto social e econômico no orçamento nacional, pois para tratá-la são necessárias novas ICP's ou cirurgia de revascularização do miocárdio. Além disso, podem contribuir, direta ou indiretamente, com o aumento das taxas de absenteísmo, aposentadorias por invalidez e óbitos.

Segundo Lima et al. (2006), a prevenção da reestenose intra-stent é complexa pois ocorre de forma imprevisível. O controle deste evento melhora a qualidade de vida, reduz a recrudescência de angina pectoris, diminui as chances de realização de novos procedimentos de revascularização e evita a reinternação hospitalar.

O impacto financeiro no tratamento de lesões coronarianas por reestenose envolve um novo procedimento percutâneo ou cirúrgico, na maioria dos casos, necessitando de um novo internamento hospitalar. Portanto, reduzir as taxas de reestenose significa também a redução dos custos para o sistema de saúde.

Entretanto, muitas das estratégias utilizadas para redução da ocorrência de reestenose são de alto custo, principalmente para países em desenvolvimento.

Segundo Lima et al. (2006), o processo de incorporação de novas tecnologias em saúde no Brasil implica no registro do produto através da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), mediante a apresentação dos resultados de estudos clínicos que demonstram o perfil de segurança do novo produto, seja ele um novo dispositivo ou um novo fármaco.

É possível que sejam necessários outros itens para compor a documentação de registro desse novo produto, como registros obtidos nas agências regulatórias de outros países que comprovam a aprovação do produto para uso clínico. Após o cumprimento desta etapa, o medicamento ou o dispositivo poderá ser utilizado no Brasil.

A etapa seguinte do processo de incorporação de novas tecnologias compreende o reembolso e o financiamento do tratamento aprovado na etapa anterior. Em geral, essa etapa pode ser mais complexa quando comparada à etapa anterior, pois as inovações tecnológicas na área de saúde, sejam elas de substituição ou de introdução de novas modalidades de tratamento, na maioria das vezes são de alto custo.

Para que as novas tecnologias sejam incorporadas ao setor de saúde, são necessárias avaliações continuadas sobre o custo e a efetividade do produto a ser introduzido para que os gestores possam racionalizar os gastos e adotar medidas que tenham, de fato, a finalidade de atender às necessidades do cenário universal de recursos, que é limitado. Em algumas situações, muitas vezes devido ao alto custo, um tratamento aprovado com base na sua eficácia e segurança não é disponibilizado para pacientes com grande potencial de benefício, o que pode gerar dificuldades à gestão (LIMA et al., 2006).

Até o presente momento, o Brasil não dispõe de uma política ou protocolo reconhecido pelo SUS que tenha permitido a incorporação dos SF. Desta forma, esses tipos de dispositivos não se encontram disponíveis para a maioria dos pacientes brasileiros.

O cenário da saúde mundial apresenta disparidades inter e intracontinentais. De acordo com os dados do The World Bank (2014), a média do percentual das despesas com saúde pública entre os países Estados Unidos, Reino Unido, Japão e Nova Zelândia no ano de 2012 foi de 73,5%, enquanto a média deste indicador entre

Brasil, Argentina, México e Chile foi de 54%. As despesas com saúde pública consistem em gastos de capital de orçamentos do governo (central e local), empréstimos externos e donativos (incluindo doações de agências internacionais e organizações não governamentais) e social (ou obrigatório) fundos de seguro de saúde. Ela abrange a prestação de serviços de saúde (preventivos e curativos), atividades de planejamento familiar, atividades de nutrição e ajuda de emergência designada à saúde, exceto ao fornecimento de água e saneamento (THE WORLD BANK, 2014). Portanto, é possível compreender que os valores referentes a estes investimentos refletem-se diretamente em indicadores de morbimortalidade e expectativa de vida, uma vez que a média de expectativa nesses países mais desenvolvidos é cerca de 80 anos, enquanto nos países latinoamericanos, como Brasil e Argentina, apresentam uma média da expectativa de vida de 75 anos (OMS, 2014).

Um estudo multicêntrico mostrou que pacientes da Austrália e da Nova Zelândia têm acesso aos serviços de saúde de forma mais ágil, em comparação com brasileiros e argentinos (PINTO et al., 2006). Outros resultados de um estudo apontam que as mulheres e os homens de origem latina apresentam mais dificuldade em reconhecer e correlacionar os sintomas às respectivas doenças comparados com os europeus (BROWN et al., 2000). A causa exata destas disparidades ainda é desconhecida, porém, é possível lançar a hipótese de que nos países latinoamericanos o baixo nível de escolaridade e as precárias condições sociais e financeiras podem influenciar na forma e no tempo que o indivíduo gasta para deslocar-se aos serviços de saúde, uma vez que a rede de atendimento à saúde mostra-se mais eficiente nos países economicamente desenvolvidos em comparação com os países mais pobres (EVANGELISTA et al., 2007; GOUVEIA et al., 2011).

Outros estudos mostram que pacientes mais jovens e brancos apresentaram melhores recursos financeiros, melhor nível de escolaridade e, conseqüentemente, rápido acesso aos serviços de saúde. Estes resultados podem facilitar o acesso à educação popular em saúde e contribuir com o melhor discernimento durante o reconhecimento e a associação de sintomas às doenças cardiovasculares, mais especificamente à DAC, quando comparados aos pacientes com menor poder aquisitivo (MOSER et al., 2006; AVEZUM et al., 2005; ZAHN et al., 2000), uma vez

que a educação popular é uma das ferramentas fundamentais da promoção à saúde.

No presente trabalho, a maioria dos entrevistados era do sexo masculino, com média de idade igual a 62,4 anos. Estes dados são confirmados por outros achados da literatura (JOHANSSON et al., 2008; GOUVEIA et al., 2011), que apontam as diferenças hormonais entre os sexos como fatores contributivos para as diferenças entre esses percentuais, uma vez que o alto nível de estrógeno, presente nas mulheres antes da menopausa, é um fator de proteção para o endotélio e reduz a formação das placas de ateroma, contribuindo, assim, para a manifestação tardia das doenças coronarianas em pessoas do sexo feminino (CONTI et al., 2002; LOCKYER, 2005).

Quanto às características clínicas, os achados deste trabalho demonstraram os elevados percentuais de portadores de HAS e DAC, confirmando os achados da literatura que mostram a relevante associação entre estes fatores e o IAM (CAMPOS et al., 2007).

Esses aspectos sugerem que em comparação com os países em desenvolvimento, a população dos países mais desenvolvidos economicamente dispõe de mais acesso aos recursos financeiros e, conseqüentemente, maior acesso à educação e aos investimentos em novas tecnologias aplicadas à saúde, como os stents farmacológicos de última geração.

É possível observar a diferença de oferta e acesso à saúde existente entre os diversos países. Em países em desenvolvimento, os recursos aplicados em saúde são limitados e, por vezes, as relações custo efetividade de produtos podem apresentar diferenças, quando comparadas com países desenvolvidos.

Segundo Finn et al. (2007), a cinética de liberação e escolha da droga é um dos componentes mais importantes da tecnologia dos stents farmacológicos (SF), pois esses fatores determinarão o tipo de resposta vascular. Os fármacos da família limus inibem o alvo da rapamicina em mamíferos (mTOR) e previnem a degradação da p27KIP1, uma ciclina-dependente, inibidora de quinase que desempenha um papel importante na regulação da migração das células do músculo liso vascular (VSMC) e proliferação mais pertinente para o processo de cura arterial. O sirolimus também é um inibidor potente da proliferação das células endoteliais por desativação da quinase p70S6, um passo essencial na progressão do ciclo celular, inibindo o fator de crescimento na fase G1 da mitose celular (VINALS et al., 1999).

O paclitaxel é um fármaco citotóxico celular, com a função de suprimir a proliferação e a migração de células musculares lisas endoteliais, interrompendo a dinâmica dos microtúbulos, afetando as células na transição da fase S para a fase G2 da mitose celular. O paclitaxel é um fármaco que tem a finalidade de reduzir a formação da hiperplasia neointimal, que é acompanhada por deposição persistente de fibrina, infiltração de macrófagos e uma diminuição global nas células musculares lisas (FINN et al., 2007; ABAL et al., 2003; NAKAMURA et al., 2014).

Embora efetivos no tratamento da aterosclerose e na redução da prevalência da reestenose, o custo com esses dispositivos faz com que o uso seja racionalizado e de difícil acesso a essas terapias em alguns países.

A evolução dos SF foi marcada por descobertas de limitações o que determinou o surgimento da segunda e terceira gerações destes dispositivos. Apesar desta evolução, existem limitações com as atuais gerações de stents e a prova maior é o programa de desenvolvimento das plataformas bioabsorvíveis, no qual existem cenários onde se acredita que tais dispositivos poderão ser os de primeira escolha (WIJNS et al., 2014).

Não se discutem a importância e a eficiência dos SF, porém a busca por estratégias também efetivas e seguras não deve ser concentrada apenas em uma linha de investigação. Em países em desenvolvimento ou em países pobres, estratégias mais baratas que os SF poderiam representar uma oportunidade de tratamento para milhões de pessoas.

Neste sentido, baseados no conceito da participação do sistema imunoinflamatório na gênese da hiperplasia neointimal, após o implante de stent, seria possível a hipótese de que o bloqueio de alguns dos atores desta resposta imune determinasse a redução da neointima.

Existe participação dos linfócitos T e algumas interleucinas (IL) na hiperplasia neointimal, e sabe-se que o MTX bloqueia a diferenciação dos linfócitos T e a expressão genética de algumas IL (KREMER, 2004), por isso os autores do presente estudo acreditam que o MTX é capaz de atuar na mitose celular que existe após ICP com stent.

Alguns estudos nacionais e internacionais, a exemplo do estudo OSIRIS, demonstraram resultados promissores na redução da reestenose através da administração de Sirolimus por via oral. Nesta pesquisa o sirolimus foi administrado ao longo de dez dias, com dose intensiva nos dois últimos dias antes da ICP,

resultando em uma redução significativa da reestenose angiográfica após o tratamento (HAUSLEITER et al., 2004).

No estudo OSIRIS foi comprovada a importância do pré-tratamento para garantir os níveis sanguíneos terapêuticos de sirolimus, pois no momento do procedimento, esses níveis apresentaram maior impacto na redução da reestenose angiográfica e inibição da fase de iniciação da proliferação neointimal, com consequente redução da perda luminal tardia.

Versaci et al. (2002) realizaram um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, controlado com placebo onde foi administrada prednisona, um corticosteróide com alto poder imunossupressor e anti-inflamatório, por via oral com a finalidade de se verificar a ocorrência de reestenose após implante de stent em pacientes de alto risco para doença inflamatória com níveis elevados de proteína C-reativa após a ICP.

O tratamento com prednisona oral por 45 dias após ICP apresentou sucesso nestes pacientes de alto risco, sendo associado com uma redução considerável da taxa de reestenose 7% *versus* 33%. Os autores concluíram que para pacientes com altos índices de proteína C-reativa, ou seja, em reação inflamatória exacerbada, a prednisona exerce um efeito redutor na reestenose. Isso pode ser justificado pelo poder anti-inflamatório dos corticosteróides que exercem um efeito inibitório profundo sobre e sua influência na função plaquetária, na proliferação de células de músculo liso e da síntese de colágeno (VERSACI et al., 2002).

Alguns estudos avaliaram MTX e reestenose após intervenção coronariana percutânea. Neste contexto, Cox et al. publicaram em 1992 um estudo com animais (porcos), no qual avaliaram se o MTX teria algum efeito na hiperplasia neointimal após implante de stent. Os autores concluíram que a quantidade de neointima não diferiu dos stents convencionais. Pouco mais de duas décadas após este estudo, torna-se necessário realizar algumas considerações sobre estes resultados. O stent utilizado foi um coil, que não tem valor na prática clínica atual e já foi retirado de mercado. Em apenas 1 hora a maioria da droga já havia sido liberada do stent, e por ser um coil, apenas um pequeno percentual foi liberado para a parede do vaso. Esta cinética de liberação nos dias atuais é inaceitável para qualquer experimento com stents farmacológicos. O modelo de “*overinflation*”, no qual a relação balão-artéria é alta, é considerado um modelo de alta probabilidade para promoção de hiperplasia, o que pode limitar o achado de impedimento da mesma a depender da potência do

agente inibidor da mitose. Portanto, a grande quantidade de droga liberada na primeira hora, a pouca quantidade de droga liberada para parede do vaso e o stent em coil são fatores que de certa forma podem permitir questionamentos sobre as conclusões dos autores supracitados.

Huang et al. em 2004 publicaram um estudo em animal (porcos), no qual implantaram stents com MTX e compararam com stents autoexpansíveis (SAE). Neste experimento, a relação stent-artéria foi 1:1 e em 24 horas cerca de 50% da droga já havia sido liberada. Os resultados demonstraram que os stents com MTX reduziram a hiperplasia neointimal (1.22 ± 0.34 mm vs 2.25 ± 1.28 mm, $p < 0.01$) e a área de estenose ($21 \pm 8\%$ vs $36 \pm 21\%$, $p < 0.01$). É importante destacar que a liberação de 50% da droga em 24 horas representa uma cinética de liberação não aceita atualmente. Outro aspecto que desperta atenção e merece reflexão foi o achado que o MTX não promoveu nenhum efeito sobre proliferação celular in vitro. Entretanto, é necessário refletir que esta conclusão foi proveniente de um experimento realizado a partir de células oriundas de aorta de coelho, e não dos porcos tratados com stents que são a base do estudo.

Portanto, é possível compreender que se não existisse nenhum tipo de efeito na proliferação de células musculares lisas (CML), como poderia ter sido reduzida a hiperplasia neointimal nos porcos? Neste momento, é possível lançar a hipótese de que outros mecanismos levaram à redução da hiperplasia, como por exemplo, a inativação da função secretória das CML, ou que o resultado da avaliação do efeito do MTX sobre a proliferação de CML da aorta de coelhos não foi o mesmo nas células dos porcos utilizados no experimento.

Embora haja resultados promissores com estudos preliminares com certas drogas via oral, não houve insistência em testar tais substâncias em grandes estudos. Portanto, os autores do presente estudo investigam se é possível o uso de drogas via oral na redução da hiperplasia neointimal após ICP.

No presente estudo, a proposição de pré-tratamento e manutenção por 60 dias do MTX foi baseado na cinética de ocorrência de mobilização e proliferação de células musculares lisas. Por se tratar de um estudo de fase 2, a princípio a prova conceitual de segurança da dose foi alcançada conforme demonstrado pela ausência de complicações menores. As complicações menores que ocorreram foram facilmente manejadas e não tiveram qualquer tipo de implicação clínica. Desta forma a droga foi considerada segura para ser utilizada neste grupo de pacientes. Quanto

à efetividade, este estudo não tem poder para concluir tal questão, apenas gerar sugestões e hipóteses.

O grupo de pacientes recrutados difere dos classicamente avaliados nos primeiros estudos clínicos de SF de primeira geração pois estes eram de baixo risco de reestenose, enquanto que os do presente estudo foram considerados de alto risco.

O presente estudo representa a primeira iniciativa clínica do grupo de pesquisa nesta área específica.

7 LIMITAÇÕES DO ESTUDO

É possível que o período de greve dos Hospitais Universitários, no primeiro semestre no ano de 2012, tenha contribuído para a morosidade no processo de recrutamento de pacientes. As dificuldades relacionadas ao fluxo reduzido de pacientes do serviço ambulatorial do Hospital das Clínicas também limitaram a quantidade de pacientes que foram encaminhados à hemodinâmica, reduzindo assim as possibilidades de serem abordados pelos pesquisadores. Nem todos os pacientes que eram encaminhados à hemodinâmica com diagnóstico confirmado de Doença Arterial Coronariana (DAC) apresentavam condições clínicas para aguardar o tempo de 15 dias para administração e efeito do metotrexato. Alguns desses pacientes já se encontravam internados no Hospital, no aguardo da angioplastia para posterior alta hospitalar. Portanto, esses pacientes embora atendessem aos critérios de inclusão do estudo, não foram inseridos na amostra devido ao curto intervalo de tempo para a administração da droga e realização do procedimento de angioplastia.

Outra dificuldade paradoxal encontrada foi que durante um período de tempo no ano de 2012 priorizou-se o implante de stents farmacológicos no Serviço de Hemodinâmica, o que pode ter contribuído para uma possível redução da amostra.

8 CONCLUSÃO

O MTX apresentou perfil de segurança satisfatório em pacientes com DAC grave submetidos a implante de stents convencionais. A baixa taxa de reestenose angiográfica e a ausência de reestenose clínica sugerem um possível efeito antirreestenótico desta droga após implante de stent convencional em artérias coronarianas.

REFERÊNCIAS

ABAL, M.; ANDREU, J. M.; BARASOAIN, I. Taxanes: microtubule and centrosome targets, and cell cycle dependent mechanisms of action. **Curr Cancer Drug Targets**. v. 3, p. 193-203, 2003.

ABBAS, A. K.; LICHTMAN, A. H.; PILLAI, S. **Imunologia celular e molecular**. 7. ed. Ilustrações de David L. Baker; tradução de Alessandro dos Santos Farias; Danielle Corbett; Diego Alfaro; Edda M. Palmeiro; Leonilda Maria Barbosa dos Santos; Luciane Faria de Souza Pontes; Nelson Gomes de Oliveira; Tatiana Ferreira Robaina; Vilma Ribeiro de Souza Varga. Revisão Científica: Mario Geller. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011. p. 203-224.

ALBIERO, R.; NISHIDA, T.; ADAMIAN, M.; AMATO, A.; VAGHETTI, M.; CORVAJA, N.; DI MARIO, C.; COLOMBO, A. Edge restenosis after implantation of high activity (32)P radioactive beta-emitting stents. **Circulation**, v. 101, p. 2454-7. 2000.

ALMEIDA, R. M. S. Revascularização do miocárdio: estudo comparativo do custo da cirurgia convencional e da angioplastia transluminal percutânea. **Rev Bras Cir Cardiovasc**, São José do Rio Preto, v. 20, n. 2, p. 142-8, 2005.

ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA, L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem com o DNA: Uma introdução. **Quim. Nova**, v. 28, n. 1, p. 118-129, 2005.

ARRUDA, J. A.; COSTA, M. A.; BRITO Jr, F. S.; TEDESCO, H.; BARBOSA, A. H. P.; RIBEIRO, E.; PESTANA, J. O. M.; LIMA, V. C. Effect of systemic immunosuppression on coronary in-stent intimal hyperplasia in renal transplant patients. **Am J Cardiol**, v. 1, p. 1363-1365, 2003.

AVEZUM, A.; PIEGAS, L. S.; PEREIRA, J. C. R. Fatores de risco associados com infarto agudo do miocárdio na região metropolitana de São Paulo. Uma região desenvolvida em um país em desenvolvimento. **Arq Bras Cardiol**, v. 84, n. 3, p. 206-13, 2005.

BEOHAR, N.; DAVIDSON, C. J.; KEVIN, E. K.; GOODREAU, L.; VLACHOS, H. A.; MEYERS, S. N.; BENZULY, K. H.; FLAHERTY, J. D.; RICCIARDI, M. J.; BENNETT, C. L.; WILLIAMS, D. O. Outcomes and Complications Associated With Off-Label and Untested Use of Drug-Eluting Stents. **JAMA**, v. 297, n.18, p.1992-2000, 2007.

BRASIL. Ministério da saúde. **SVS** - sistema de informações de mortalidade (SIM). 2014a. Disponível em: <http://www.tabnet.datasus.gov.br>. Acesso em: 03 set. 2014.

BRASIL. Ministério da saúde. 2014b. Disponível em: <http://tabnet.datasus.gov.br/cgi/deftohtm.exe?sih%2Fcvn%2Fqiuf.def>. Acesso em: 03 set. 2014

BRASIL. Ministério da saúde. 2014c. Disponível em: <http://sigtap.datasus.gov.br/tabela-unificada/app/sec/procedimento/exibir/0406030030/11/2013>. Acesso em: 03 set. 2014.

BROWN, A. L.; MANN, N. C.; DAYA, M.; GODLBERG, R.; MEISCHKE, H.; TAYLOR, J.; SMITH, K.; OSGANIAN, S.; COOPER, L. Demographic, belief, and situational factors influencing the decision to utilize emergency medical services among chest pain patients. Rapid Early Action for Coronary Treatment (REACT) study. **Circulation**, v. 102(2), p. 173-8, 2000.

CAMPBELL, J. H.; CAMPBELL, G. R. Smooth muscle phenotypic modulation-a personal experience. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.**, v. 32, p.1784-1789, 2012.

CAMPOS, A. H. M.; LEMOS, P. A.; RIBEIRO, E. E.; FALCÃO, J. L. L. A. A.; PERIN, M. A.; KAJITA, L. J.; FILHO, A. E.; ET, A. L.; GAMA, M. N.; HORTA, P. E.; MARCHIORI, G. G.; SPADARO, A. G.; SOARES, P. R.; ZALC, S.; MARTINEZ, E. E. Síndrome coronária aguda sem supradesnível de ST de alto risco: a mortalidade intra-hospitalar é proporcional ao retardo para a intervenção. **Rev Bras Cardiol Invas**, , 15(3): 244-8, 2007.

CHAABANE, C.; OTSUKA, F.; VIRMANI, R.; BOCHATON-PIALLAT, M. L. Biological responses in stented arteries. **Cardiovasc Res.**, v. 99, n. 2, p.353-63, jul. 2013.

CHIEFFO, A.; FOGLIENI, C.; NODARI, R. L.; BRIGUORI, C.; SANGIORGI, G.; LATIB, A.; MONTOFANO, M.; AIROLDI, F.; MICHEV, I.; CARLINO, M.; COLOMBO, A.; MASERI, A. Histopathology of clinical coronary restenosis in drug-eluting versus bare metal stens. **Am J Cardiol.** v. 104, p.1660-1667, 2009.

CHOI, H. K.; HERNÁN, M. A.; SEEGER, J. D.; ROBINS, J. M.; WOLFE, F. Methotrexate and mortality in patients with rheumatoid arthritis: a prospective study. **Lancet.** v. 359, n. 9313, p.1173-1177, 2002.

CONTI, R. A. S.; SOLIMERE, M. C.; LUZ, P. L.; BENJÓ, A. M.; NETO, P. A. L.; RAMIRES, J. A. F. Comparação entre homens e mulheres jovens com infarto agudo do miocárdio. **Arq Bras Cardiol**, , 79(5): 510-7, 2002.

COX, D. A.; ANDERSON, P. G.; ROUBIN, G. S.; CHOU, C.; AGRAWAL, S. K.; CAVENDER, B. Effect of local delivery of heparin and methotrexate on neointimal proliferation in stented porcine coronary arteries. **Coron Artery Dis.** 3:237-248, 1992.

- CRUVINEL, W. M.; MESQUITA Jr., ARAÚJO, J. A. P.; CATELAN, T. T. T.; SOUZA, A. W. S.; SILVA, N. P.; ANDRADE, L. E. C. Sistema imunitário – Parte 1. Fundamentos da imunidade inata com ênfase nos mecanismos moleculares e celulares da resposta inflamatória. **Rev Bras Reumatol**, v. 50, n. 4, p. 434-61, 2010.
- CUTOLO, M.; SULLI, A.; PIZZONI, C. et al. Anti-inflammatory mechanisms of methotrexate in rheumatoid arthritis. **Ann Rheum Dis.**, v. 60, p. 729-35, 2001.
- CYBULSKY, M. I.; GIMBRONE, M. A. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. **Science**, v. 251, p.788–791, 1991.
- DONG, Z. M.; CHAPMAN, S. M.; BROWN, A. A. et al. The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. **J Clin Invest**, v. 102, p. 145–152, 1998.
- DRACHMAN, D. E.; SIMON, D. I. Inflammation as a mechanism and therapeutic target for in-stent restenosis. **Curr Atheroscler Rep.**, v. 7, n.1, p. 44-9, 2005.
- EECKHOUT, E. et al. **Percutaneous Interventional Cardiovascular Medicine: The PCR-EAPCI Textbook**. Europe: Europa Edition, 2012.
- EVANGELISTA, P. A.; BARRETO, S. M.; GUERRA, H. L.; Acesso à internação e fatores associados ao óbito hospitalar por doenças isquêmicas. **Arq Bras Cardiol**, v. 90, n. 2, p. 130-8, 2007.
- FABBRI, L.; CARAMORI, G.; COSMA, P.; CIACIA, A. Methotrexate in the Treatment of Systemic Glucocorticoid-Dependent Severe Persistent Asthma: a Word of Caution. **Am Rev Respir Dis**, v. 143, n. 1, p. 179-81; jan 1996.
- FARB, A.; BURKE, A. P.; KOLODGIE, F. D.; VIRMANI, R. Pathological mechanisms of fatal late coronary stent thrombosis in humans. **Circulation**. v. 108, p.1701-1706, 2003.
- FARB, A; KOLODGIE, F. D.; HWANG, J. Y.; BURKE, A. P.; TEFERA, K.; WEBER, D. K.; WIGHT, T. N.; VIRMANI, R. Extracellular matrix changes in stented human coronary arteries. **Circulation**. v. 110(8), p. 940-7, 2004.
- FINN, A. V.; KOLODGIE, F. D.; HARNEK, J.; HARNEK, J.; GUERRERO, L. J.; ACAMPADO, E.; TEFERA, K. SKORIJA, K.; WEBER, D.K.; GOLD, H. K.; VIRMANI, R. Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus or paclitaxel-eluting stents. **Circulation**. v.112, p. 270-278, 2005.
- FINN, A. V.; KOLODGIE, F. D; VIRMANI, R. Temporal course of neointimal formation after drug-eluting stent placement: is our understanding of restenosis changing? **JACC Cardiovasc Interv**. v. 2, n.4, p.300-302, 2009.

FINN, A. V.; NAKAZAWA, G.; JONER, M.; KOLODIE, F. D.; MONT, E. K.; GOLD, H. K.; VIRMANI, R. Vascular responses to drug eluting stents: Importance of delayed healing. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 27, p.1500-1510, 2007.

FURST, D.; KOEHNKE, R.; BURMEISTER, L. F.; KOHLER, J.; CARGILL, I.; Increasing Methotrexate Effect with Increasing Dose in the Treatment of Resistant Rheumatoid Arthritis. **J Rheumatol**, v. 16, p. 313-20, 1989.

GATNASH, A. A.; CONNALLY, C. K. Fatal Chickenpox Pneumonia in an Asmathic Patient on Oral Steroids and Methotrexate. **Thorax**, v. 50, n.4, p.422-3; abr. 1995.

GOUVEIA, V. A.; VICTOR, E. G.; LIMA, S. G. Atitudes pré-hospitalares adotadas por pacientes frente aos sintomas de infarto agudo do miocárdio. **Rev. Latino-Am. Enfermagem**, v. 19, n.5, p.1080-1087, 2011.

HAUSLEITER, J.; KASTRATI, A.; MEHILLI, J.; VOGESER, M.; ZOHLNHÖFER, D.; HELMUT, S.; GOOS, C.; PACHE, J.; DOTZER, F.; POGATSA-MURRAY, G.; DIRSCHINGER, J.; HEEMANN, U.; SCHÖMIG, A. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral sirolimus for restenosis prevention in patients with in-stent restenosis: The Oral Sirolimus to Inhibit Recurrent In-stent Stenosis (OSIRIS) Trial. **Circulation**. 110:790-795, 2004.

HENN, V.; SLUPSKY, J. R.; GRAFE, M. et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. **Nature**. v. 391, p.591-594, 1998.

HUANG, S.; HOUGHTON, P. J.; Mechanisms of resistance to rapamycins. **Drug Resist Updat**. v. 4, p: 378-391, 2004.

INOUE, T.; CROCE, K.; MOROOKA, T.; SAKUMA, M.; NODE, K.; SIMON, D. I. Vascular inflammation and repair: Implications for re-endothelialization, restenosis, and stent thrombosis. **JACC. Cardiovascular interventions**. v. 4, p.1057-1066, 2011.

JANES, G.; MIERENS, E.; KARSH, J. Methotrexate-Induced Asthma. **Am Rev Respir Dis**. v. 143, n.1, p.179-81; jan. 1991.

JOHANSSON, I.; SWAHN, E.; STRÖMBERG, A. Spouses' conceptions of the pre-hospital phase when their partners suffered an acute myocardial infarction – A qualitative analysis. **Eur J Cardiovasc Nurs**, , 7:182-8, 2008.

JONER, M.; FINN, A. V.; FARB, A.; MONT, E. K.; KOLODIE, F. D.; LADICH, E.; KUTYS, R.; SKORIJA, K.; GOLD, H. K.; VIRMANI, R. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. **J Am Coll Cardiol**. v. 48, p.193-202, 2006.

KIM, M. S.; DEAN, L. S. In-stent restenosis. **Cardiovasc Ther**. v. 29, p. 190–8, 2011.

KIPSHIDZE, N.; DANGAS, G.; TSAPENKO, M.; MOSES, J.; LEON, M. B.; KUTRYK, M.; SERRUYS, P. Role of the endothelium in modulating neointimal formation: Vasculoprotective approaches to attenuate restenosis after percutaneous coronary interventions. **J Am Coll Cardiol.**, v. 44, p. 733-739, 2004.

KREMER, J. M. Toward a better understanding of methotrexate. **Arthritis & Rheumatism**, v. 50, n. 5, p. 1370-1382, 2004.

KUBO, S.; KADOTA, K.; OTSURU, S.; HASEGAWA, D.; HABARA, S.; TADA, T.; TANAKA, H.; FUKU, Y.; KATOH, H.; GOTO, T.; MITSUDO, K. Everolimus-eluting stent implantation versus repeat paclitaxel-coated balloon angioplasty for recurrent restenosis lesion caused by paclitaxel-coated balloon failure. **Eurointervention**. 10:e1-e8, 2015.

KUITERT, L. M.; HARRISON, A.C. Pneumocystis carinii Pneumonia as a Complication of Methotrexate Treatment of Asthma. **Thorax**, v. 46, n.12, p.936-7, 1991.

LI, J. J.; NIE, S. P.; ZHANG, C. Y.; GAO, Z.; ZHENG, X.; GUO, Y. L. Is inflammation a contributor for coronary stent restenosis? **Med Hypotheses**, v. 68, n. 5, p. 945-51. 2007.

LIBBY, P. Current concepts of the pathogenesis of the acute coronary syndromes. **Circulation**, v. 104, p.365–372, 2001.

LIBBY, P.; AIKAWA, M.; JAIN, M. K. Vascular endothelium and atherosclerosis. **Handb Exp Pharmacol**. v. 176, n.2, p.285-306, 2006.

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

LIBBY, P.; SCHWARTZ, D.; BROGI, E. et al. A cascade model for restenosis. A special case of atherosclerosis progression. **Circulation**, v. 86, n.3, p.47-52, 1992.

LIBBY, P.; SIMON, D. I. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. **Circulation**, v. 103, p. 1718-1720, 2001.

LIMA, D. R. **Manual de Farmacologia Clínica, Terapêutica e Toxicologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995.

LIMA, V. C.; MATTOS, L. A. P.; CARAMORI, P. R. A.; PERIN, M. A.; MANGIONE, J. A.; MACHADO, B. M.; COELHO, W. M. C.; BUENO, R. R. L. Consenso de Especialistas (SBC/SBHCI) sobre o uso de stents farmacológicos. Recomendações da Sociedade Brasileira de Cardiologia/ Sociedade Brasileira de Hemodinâmica e Cardiologia Intervencionista ao Sistema Único de Saúde. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 87, p. 162-167, 2006.

LOCKYER, L. Women's interpretation of their coronary heart disease symptoms. **Eur J Cardiovasc Nurs**, , 4: 29-35, 2005.

MACH, F.; SCHONBECK, U.; BONNEFOY, J. Y. et al. Activation of monocyte/macrophage functions related to acute atheroma complication by ligation of CD40: induction of collagenase, stromelysin, and tissue factor. **Circulation**. v. 96, p. 396–399, 1997.

MCFADDEN, E. P.; STABILE, E.; REGAR, E.; CHENEAU, E.; ONG, A. T. L.; KINNAIRD, T.; SUDDATH, W.; WEISSMAN, N. J.; TORGUSON, R.; KENT, K. M.; PICHARD, A. D.; SATLER, L. F.; WAKSMAN, R.; SERRUYS, P. W. Late thrombosis in drug-eluting coronary stents after discontinuation of antiplatelet therapy. **The Lancet**, v. 364, p. 1519-1521, 2004.

MITRA, A. K.; AGRAWAL, D. K. In stent restenosis: Bane of the stent era. **J Clin Pathol.**, v. 59, p.232-239, 2006.

MOSER, D. K.; KIMBLE, L. P.; ALBERTS, M. J.; ALONZO, A.; CROFT, J. B.; DRACUP, K.; EVENSON, K. R.; GO, A. S.; HAND, M. M.; KOTHARI, R. U.; MENSAH, G. A.; MORRIS, D. L.; PANCIOLI, A. M.; RIEGEL, B.; ZERWIC, J. J. Reducing delay in seeking treatment by patients with acute coronary syndrome and stroke. A scientific statement from the American Heart Association Council on Cardiovascular Nursing and stroke Council. **Circulation**, v. 114, p. 175-189, 2006.

MOSES, W. J.; LEON, M. B.; POPMA, J. J.; FITZGERALD, P. J.; HOLMES, D. R.; O'SHAUGHNESSY, C.; CAPUTO, R. P.; KEREIAKES, D. J.; WILLIAMS, D. O.; TEIRSTEIN, P. S.; JAEGER, J. L.; KUNTZ, R. E. Sirolimus-Eluting Stents versus Standard Stents in Patients with Stenosis in a Native Coronary Artery. **N Engl J Med**, v. 349, p. 1315-1323, 2003.

NAKAMURA, D.; LEE, Y.; YOSHIMURA, T.; TANIIE, M.; MAKINO, N.; KATO, H.; EGAMI, Y.; SHUTTA, R.; TANOUCHE, J.; YAMADA, Y.; HARA, M.; SAKATA, Y.; HAMASAKI, T.; NISHINO, M. Different serial changes in the neointimal condition of sirolimus-eluting stents and paclitaxel-eluting stents: an optical coherence tomographic study. **EuroIntervention**. 10(8):924-33, 2014.

NEYT, M.; VAN BRABANDT, H.; DEVRIESE, S. et al. Cost-effectiveness analysis of drug eluting stents versus bare metal stents: A systematic review of literature. **Health Policy**, v. 91, p. 107-120, 2009.

NUSBAUM, Robert L. et al. **Thompson & Thompson, genética médica**. 7. ed. trad. Rio de Janeiro: Elsevier, 2012. cap. 2, p. 5-24.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. Disponível em: <http://www.paho.org/bra/>. Acessado em 04/09/2014 às 8h

OTSUKA, F.; FINN, A. V.; YAZDANI, S. K.; NAKANO, M.; KOLODZIE, F. D.; VIRMANI, R. The importance of the endothelium in atherothrombosis and coronary stenting. **Nature Rev. Cardiol.** v.9, p.439-453, 2012.

PADFIELD, G. J.; NEWBY, D. E.; MILLS, N. L. Understanding the role of endothelial progenitor cells in percutaneous coronary intervention. **J Am Coll Cardiol.**, v. 55, p. 1553-1565, 2010.

PEREIRA, I. A.; CRUZ, B. A.; XAVIER, R. M.; PINHEIRO, G. R. C.; TITTON, D. C.; GIORGI, R. D. N.; ROCHA, F. A. C.; LAURINDO, I. M. M.; BÉRTOLO, M. B.; DOUGADOS, M. **Rev Bras Reumatol.** v. 49, n. 4, p. 346-361, 2009.

PINTO, D. S.; KIRTANE, A. J.; NALLAMOTHU, B. K.; MURPHY, S. A.; COHEN, D. J.; LAHAM, R. J.; CUTLIP, D. E.; BATES, E. R.; FREDERICK, P. D.; MILLER, D. P.; CARROZZA, J. P. Jr; ANTMAN, E. M.; CANNON, C. P.; GIBSON, C. M. Hospital delays in reperfusion for ST-elevation myocardial infarction. **Circulation**, v. 114, p. 2019-25, 2006.

RARTHORE, S.; KINOSHITA, Y.; TERASHIMA, M.; KATOH, O.; MATSUO, H.; TANAKA, N.; KIMURA, M.; TSUCHIKANE, E.; NASU, K.; EHARA, M.; ASAKURA, Y.; SUZUKI, T. A comparison of clinical presentations, angiographic patterns and outcomes of in-stent restenosis between bare metal stents and drug eluting stents. **Eurointervention**, v.5(7), p. 841-846, 2010.

RICHARDSON, A.; KAYE, S. B.; Drug resistance in ovarian cancer: the emerging importance of gene transcription and spatio-temporal regulation of resistance. **Drug Resist Updat.** v. 8, p. 311-321, 2005.

ROSS, R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. **N Engl J Med.**, v. 340, p.115-126, 1999.

SERRUYS, P. W.; KAY, I. P. I like the candy, I hate the wrapper: the (32) P radioactive stent. **Circulation**, v. 101, p. 3-7, 2000.

TARNOW-MORDI, W. OSIRIS: Oral Sirolimus to Inhibit Recurrent In-stent Restenosis Trial. **Lancet**, v. 341, p. 174, jan. 1993.

TEIRSTEIN, P. S. Drug-eluting stent restenosis: an uncommon yet pervasive problem. **Circulation**. v. 122, p. 5-7, 2010.

THE WORLD BANK. Disponível em: <http://wdi.worldbank.org/table/2.15>. Acessado em 04 set 2014 às 8h.

THOM, T.; HAASE, N.; ROSAMOND, W.; HOWARD, V. J.; RUMSFELD, J.; MANOLIO, T.; ZHEG, Z. J.; FLEGAL, K.; O'DONNELL, C.; KITNER, S.; LLOYD-JONES, D.; GOFF, D. C, Jr; HONG, Y.; ADAMS, R.; FRIDAY, G.; FURIE, K.; GORELICK, P.; KISSELA, B.; MARLER, J.; WASSERTHIEL-SMOLLER, S.;

WILSON, M.; WOLF, P.; Heart disease and stroke statistics—2006 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. **Circulation**, v. 113, p. e85-151, 2006.

TSAI, J. J.; SHIN, J. F.; CHEN, C. H.; WANG, S. R. Methotrexate Pneumonitis in Bronchial Asthma. **Int Arch Allergy Immunol**, v. 100, n. 3, p. 287-90, 1993.

UZUNIAN, A.; BIRNER, E. Divisão Celular – Mitose. In: _____ (Org.). **Biologia**. 3. ed. São Paulo: HARBRA. v. Único, 2008. p.150-154.

VAN BEUSEKOM, H. M.; SAIA, F.; ZINDLER, J. D.; LEMOS, P. A.; SWAGER-TEN HOOR, S. L.; VAN LEEUWEN, M. A.; DE FEIJTER, P. J.; SERRUYS, P. W.; VAN DER GIESSEN, W. J. Drug-eluting stents show delayed healing: paclitaxel more pronounced than sirolimus. **Eur Heart J**, v. 28, p. 974-979, 2007.

VAN DER GIESSEN, W. J.; REGAR, E.; HARTEVELD, M. S.; COEN, V. L.; BHAGWANDIEN, R.; AU, A.; LEVENDAG, P. C.; LIGTHART, J.; SERRUYS, P. W.; DEN BOER, A.; VERDOUW, P. D.; BOERSMA, E.; HU, T.; VAN BEUSEKOM, H. M. “Edge effect” of (32)p radioactive stents is caused by the combination of chronic stent injury and radioactive dose falloff. **Circulation**, v.104, p. 2236-2241, 2001.

VAN HALM, V. P.; NURMOHAMED, M. T.; TWISK, J. W.; DIJKMANS, B. A.; VOSKUYL, A. E. Disease Modifying Antirheumatic Drugs are Associated with a Reduced Risk for Cardiovascular Disease in Patients with Rheumatoid Arthritis: a Case Control Study. **Arthritis Res Ther**, 8(5):R151, 2006.

VERSACI, F.; GASPARDONE, A.; TOMAI, F.; RIBICHINI, F.; RUSSO, P.; PROIETTI, I.; GHINI, A.S.; FERRERO, V.; CHIARIELLO, L.; GIOFFRÉ, P. A. et al. Immunosuppressive therapy for the prevention of restenosis after coronary artery stent implantation (impress study). **J AM COLL Cardiol**, 2002; 40, p. 1935-1942.

VERSTAPPEN, S. M.; JACOBS, J. W.; VAN DER VEEN, M. J.; HEURKENS, A. H.; SCHENK, Y.; TER BORG, E. J. et al. Intensive Treatment with Methotrexate in Early Rheumatoid Arthritis: Aiming for Remission. Computer Assisted Management in Early Rheumatoid Arthritis (CAMERA, an openlabel strategy trial). **Ann Rheum Dis**, v. 66, p. 1443-9, 2007.

VINALS, F.; CHAMBARD, J. C.; POUYSSEGUR, J. p 70 S6 Kinase-mediated protein synthesis is a critical step for vascular endothelial cell proliferation. **J Biol Chem**. v.274, p. 26776-26782, 1999.

VIRMANI, R.; KOLODZIE, F. D.; FARB, A.; LAFONT, A.; Drug eluting stents: Are human and animal studies comparable? **Heart**, v. 89, p. 133-138, 2003.

WELT, F.G.; ROGERS, C. Inflammation and restenosis in the stent era. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v. 22, p.1769-1776, 2002.

WIGHT, T.N.; POTTER-PERIGO, S. The extracellular matrix: An active or passive player in fibrosis? **Am J Physiol. Gastrointest Liver Physiol**, v. 301, p. 950-955, 2011.

WIJNS, W.; VROLIX, M.; VERHEYE, S.; SCHOORS, D.; SLAGBOOM, T.; GOSSELINK, M.; BENIT, E.; DONOHOE, D.; KNAPE, C.; ATTIZZANI, G.; LANSKY, A.; ORMISTON, J. **EuroIntervention**, 2014; 10-online publish-ahead-of-print May 2014. Disponível em:
http://www.pcronline.com/eurointervention/ahead_of_print/201405-03/; Acessado em 01 de setembro de 2014 às 10:30h.

WIN, H. K.; CALDERA, A. E.; MARESH, K.; LOPEZ, J.; RIHAL, C. S.; PARIKH, M. A.; GRANADA, J. F.; MARULKAR, S.; NASSIF, D.; COHEN, D. J.; KLEIMAN, N. S. For the EVENT Registry Investigators. Clinical outcomes and stent thrombosis following off-label use of drug-eluting stents. **JAMA**, v. 297, p. 2001-9, 2007.

ZAHN, R.; SCIELE, R.; SEIDL, K.; KAPP, T.; GLUNZ, H. G.; JAGODZINSKI, E.; VOIGTLÄNDER, T.; GOTTWIK, M.; BERG, G.; THOMAS, H.; SENGEN, J. Acute myocardial infarction occurring in versus out of the hospital: patient characteristics and clinical outcome. **J Am Coll Cardiol**, v. 35, n. 7, p. 1820-6, 2000.

ZHOU, B. B.; ELLEDGE, S. J. The DNA damage response: Putting checkpoints in perspective. **Nature**. v. 408(6811), p.433-9, 2000.

APÊNDICES

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES ALFABETIZADOS

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **IMPACTO DO METOTREXATE NA REESTENOSE APÓS IMPLANTE DE STENT CORONARIANO CONVENCIONAL**, vinculada ao Programa e Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco (PPGIT/UFPE). O motivo que nos leva a estudar este problema são as altas taxas de reestenose após o implante de stent coronariano convencional, que atingem cerca de 60 a 70% dos pacientes submetidos à este procedimento. O objetivo deste projeto é avaliar a segurança do metotrexate administrado por via oral em pacientes portadores de doença arterial coronariana (DAC) grave submetidos ao implante de stent coronariano convencional. Para a coleta de dados serão realizadas entrevistas, exame físico, análise dos resultados dos exames e prontuários dos pacientes atendidos no Laboratório de Hemodinâmica do Hospital das Clínicas da UFPE que assinarem este termo.

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS: Por se tratar de um estudo em que haverá a administração do medicamento metotrexate, admite-se que os riscos sejam dependentes dos efeitos colaterais iniciais como: náuseas, vômitos, ulcerações mucosas, diarreia, dermatite e alopecia, além de possíveis constrangimentos e danos morais que possam surgir através das informações disponibilizadas pelo paciente durante a entrevista. Porém, para minimizar estes riscos, os pesquisadores aplicarão critérios de inclusão e exclusão para selecionar os pacientes elegíveis para o estudo, além de preservar a identidade e informações dos entrevistados em total sigilo. Contudo, os conhecimentos adquiridos poderão trazer benefícios aos pacientes submetidos ao implante de stent coronariano convencional através da melhoria da qualidade de vida e autonomia do paciente através da introdução de uma terapia por via oral de baixo custo.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada com a Doutoranda e outra será fornecida a você.

CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS

DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

DECLARAÇÃO DO (A) PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL PELO (A) PARTICIPANTE:

Eu, _____, N° da Identidade (RG) _____ fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento que poderei solicitar novas informações e mudar a minha decisão se assim o desejar. A Doutoranda Viviane de Araújo Gouveia e seu professor orientador Dinaldo Cavalcanti de Oliveira certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar a doutoranda **Viviane de Araújo Gouveia** ou o Orientador **Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira** nos telefones **(081) 8843-2781 ou (081) 8679-3821** ou através do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE situado na Av. das Engenharías, s/n. prédio do CCS - 1º andar, sala 4. Fone: 81 2126.8588, E-mail: **cepccs@ufpe.br**, sob coordenação do Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

RG	Nome e Assinatura do Pesquisador	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
RG	Nome e Assinatura da Testemunha	Data

APÊNDICE B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PACIENTES NÃO ALFABETIZADOS

Você está sendo convidado(a) como voluntário(a) a participar da pesquisa: **IMPACTO DO METOTREXATE NA REESTENOSE APÓS IMPLANTE DE STENT CORONARIANO CONVENCIONAL**, vinculada ao Programa e Pós-graduação em Inovação Terapêutica da Universidade Federal de Pernambuco (PPGIT/UFPE). O motivo que nos leva a estudar este problema são as altas taxas de reestenose pós implante de stent coronariano convencional, que atingem cerca de 60 a 70% dos pacientes submetidos à este procedimento. O objetivo desse projeto é avaliar a segurança do metotrexate administrado por via oral em pacientes portadores de doença arterial coronariana (DAC) grave submetidos ao implante de stent coronariano convencional. Para a coleta de dados serão realizados entrevistas, exame físico, análise dos resultados dos exames e prontuários dos pacientes atendidos na hemodinâmica do Hospital das Clínicas da UFPE que assinarem este termo.

DESCONFORTOS, RISCOS E BENEFÍCIOS: Por se tratar de um estudo em que haverá a administração do medicamento metotrexate, admite-se que os riscos sejam dependentes dos efeitos colaterais iniciais como: náuseas, vômitos, ulcerações mucosas, diarreia, dermatite e alopecia, além de possíveis constrangimentos e danos morais que possam surgir através das informações disponibilizadas pelo paciente durante a entrevista. Porém, para minimizar estes riscos, os pesquisadores aplicarão critérios de inclusão e exclusão para selecionar os pacientes elegíveis para o estudo, além de preservar a identidade e informações dos entrevistados em total sigilo. Contudo, os conhecimentos adquiridos poderão trazer benefícios aos pacientes submetidos ao implante de stent coronariano convencional através da melhoria da qualidade de vida e autonomia do paciente através da introdução de uma terapia por via oral de baixo custo.

GARANTIA DE ESCLARECIMENTO, LIBERDADE DE RECUSA E GARANTIA DE SIGILO: Você será esclarecido(a) sobre a pesquisa em qualquer aspecto que desejar. Você é livre para recusar-se a participar, retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não irá acarretar qualquer penalidade ou perda de benefícios. O(s) pesquisador(es) irá(ão) tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Seu nome ou o material que indique a sua participação não será liberado sem a sua permissão. Você não será identificado(a) em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo. Uma cópia deste consentimento informado será arquivada com a Doutoranda e outra será fornecida a você.

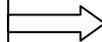
CUSTOS DA PARTICIPAÇÃO, RESSARCIMENTO E INDENIZAÇÃO POR EVENTUAIS

DANOS: A participação no estudo não acarretará custos para você e não será disponível nenhuma compensação financeira adicional.

DECLARAÇÃO DO (A) PARTICIPANTE OU RESPONSÁVEL PELO (A) PARTICIPANTE:

Eu, _____, N° da Identidade (RG) _____ a rogo de _____, N° identidade (RG) _____, fui informado (a) dos objetivos da pesquisa acima de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que em qualquer momento que poderei solicitar novas informações e motivar minha decisão se assim o desejar. A Doutoranda Viviane de Araújo Gouveia e seu professor orientador Dinaldo Cavalcanti e Oliveira certificaram-me de que todos os dados desta pesquisa serão confidenciais. Também sei que caso existam gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa. Em caso de dúvidas poderei chamar a doutoranda **Viviane de Araújo Gouveia** ou o Orientador **Dr. Dinaldo Cavalcanti de Oliveira** nos telefones **(081) 8843-2781 ou (081) 8679-3821** ou através do Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da UFPE situado na Av. das Engenharias, s/n. prédio do CCS - 1º andar, sala 4. Fone: 81 2126.8588, E-mail: **cepccs@ufpe.br**, sob coordenação do Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto. Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada a oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Local para impressão digital do paciente
que concordou em participar da pesquisa



RG	Nome e Assinatura do Pesquisador	Data
	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
	Nome e Assinatura da Testemunha	Data
	Nome e Assinatura da Testemunha	Data

APÊNDICE C - FICHA DE CONSULTA PARA REAVALIAÇÃO QUINZENAL DOS PACIENTES DO ESTUDO

Nome do paciente: _____

Data da 1ª dose de metotrexato: ___/___/___ Data da última dose de Metotrexato: ___/___/___

Data da angioplastia (ATC): _____

Consulta Nº: ___ Data: _____ Hora: _____ SSVV: PA: _____ Pulso: _____ R: _____ T: _____		
Avaliação quanto aos efeitos colaterais do Metotrexato (MTX)		
Náuseas () sim () não	Vômitos () sim () não	Tonturas () sim () não
Diarreia () sim () não	Boca seca () sim () não	Coceira () sim () não
Pele despidando () sim () não	Feridas nas mucosas () sim () não	Problemas respiratórios () sim () não
Outras queixas: _____		
EXAME FÍSICO:		
Pele e mucosas (coloração, integridade lesões, icterícia): _____ _____		
Cabeça (lesões do couro cabeludo, simetria da face, acuidade visual, nariz, acuidade auditiva, boca, pescoço – movimentos, linfonodos, tireóide): _____ _____		
Sistema nervoso (nível de consciência, orientação, movimentação – deambulação com ou sem ajuda, parestia, parestesia): _____ _____		
Tórax (expansão, simetria, alterações, mamas): _____ _____		
Sistema respiratório (padrão respiratório, ausculta pulmonar – MV, roncos, sibilos, estertores (local): _____ _____		
Sistema cardiovascular (ausculta CV, perfusão, ritmo, bulhas, sopros): _____ _____		
Sistema gastrointestinal (tipo de abdome, simetria, sons, eliminações, dor): _____ _____		
Sistema genito-urinário (frequência e tipo das eliminações, SVD, Lesões e alterações anatômicas): _____ _____		
Membros superiores e inferiores (movimentação, alterações anatômicas, lesões, edemas, feridas, varizes, cicatrizes): _____ _____		
OBSERVAÇÕES: _____ _____ _____		
AVALIADOR: _____		

APÊNDICE D - FICHA CLÍNICA DO ESTUDO

Identificação

IH: _____ Nome: _____ Idade _____

Sexo (M) (F) Endereço Contatos IMC _____

Antecedentes

HAS Arritmia Tabagismo AVC DLP IR (Cr > 2) História familiar DAC

Sorologia + (HIV, Hepatite B ou C) Lesão de carótida Hepatopatia DPOC

Insuf Vasc Per Cirurgia prévia Qual (is) _____ (/ /)

IAM: < 1 mês (1ª Sem 2ª Sem 3ª Sem 4ª Sem) ou > 1 mês

Tipo do IAM: Anterior Lateral Inferior Outro

Antecedente infecção _____ Câncer _____

DM

DAC

Disfunção VE (FE%)

o dieta

o RM

o Discreta (40 – 50)

o hipoglicemiante oral

o ICP (ATC)

o Moderada (30 – 40)

o insulina

o Outra (_____)

o Grave (< 30)

Outros: _____

Exames Complementares

Índice tornozelo-braquial: _____

ECG: Ritmo: Sinusal Outros (_____)

ST infra (região: _____) ST supra (região: _____) T invertida (região: _____)

BRE BRD BDAE BAVT outros: _____

Ecocardiograma: nº exame _____

Bioquímica e hemograma:

Potássio: _____ Sódio: _____ Ureia: _____ Creatinina: _____

Glicemia: _____ Magnésio: _____ Troponina (pico): _____ CKMB(pico): _____

Hemoglobina: _____ Hematócrito: _____ Leucócitos: _____ (Desvio esquerda: sim não)

Plaquetas: _____

Cinecoronariografia: nº exame _____

Angiografia coronária quantitativa:

Variável	Vaso (pre-ATC)	Vaso	Vaso (MIED)	Vaso	Vaso (9 MESES)
DR proximal					
DR distal					
DML					

% estenose					
Extensão(mm)					
Segmento					

Ganho agudo

Perda tardia do lumen

DR: diâmetro de referência, DLM: diâmetro mínimo da luz

Evolução Hospitalar:

Alta: _____(data) Óbito: _____(data)

Evolução Tardia

9 meses

Óbito cardíaco sim não

Óbito não cardíaco sim não

IAM sim não

AVE sim não

RM sim não

ATC (stent: sim não) sim não

ABSTRACT - Purpose: This study aimed to evaluate the safety of oral administration of Methotrexate (MTX) to patients with severe Coronary artery disease (CAD) and the effect of MTX on restenosis after Bare-metal stent (BMS) deployment. **Methods:** This prospective, nonrandomized, descriptive, open-label, phase II clinical study that enrolled 16 patients. All patients underwent BMS deployment. MTX 5 mg/weekly was administered 15 days before and 60 days after the index procedure were monitored clinically every 15 days during the first 2 months after the procedure and monthly from the 3rd to 9th month after Percutaneous Coronary Intervention (PCI). Coronary angiographs were performed in all patients 9 month after PCI. **Results:** The average diameter and length of the stents were 3.0 ± 0.4 mm and 18.1 ± 5.9 mm, respectively. There were no immediate or late complications associated with PCI. Adverse events and side effects due to use of MTX occurred in 3 patients (prevalence = 18.7%). All of them considered minor events. There were no reported cases of clinical restenosis. Only one patient had angiographic restenosis (prevalence = 6,2%), but according to perfusion image test this patient did not have ischemia. **Conclusions:** MTX was safe in the study population. This drug may have effect on neointimal hyperplasia and raised the possibility of using a low-cost drug with positive effects on restenosis after BMS implantation.

INTRODUCTION

Percutaneous coronary intervention (PCI) with stent implantation revolutionized treatment of coronary artery disease (CAD); to date, it is the most commonly used myocardial revascularization method in cardiology (1-3).

Drug-eluting stents (DES) can markedly reduce restenosis and have become the most commonly used devices in interventional cardiology for treatment of coronary stenosis (1). Although this technique does not completely abolish restenosis, a drastic reduction due to significant decrease in neointimal hyperplasia has been reported (4).

On the other hand, the rate of restenosis bare-metal stents (BMS) varies according to clinical setting, patient and angiographic characteristics, with rates as high as 60% (5-6). Oral drugs for reduction of restenosis are not a practice in interventional cardiology because studies performed did not support it (6-7). Several studies that evaluated oral administration of sirolimus or immunosuppressants plus BMS deployment have reported reduced neointimal hyperplasia compared with BMS alone; however, this reduction was not sufficient to allow their clinical use (7-8).

Increased knowledge of restenosis pathophysiology after stent implantation in the past decade has helped to explain why certain drugs were not effective when administered orally.

Methotrexate (MTX) is a folate antagonist that blocks the S-phase of cell division, consequently blocking mitosis. Moreover, it has potent anti-inflammatory activity (9).

MTX was initially developed for cancer treatment; however, it has been used to treat rheumatic diseases including rheumatoid arthritis (RA) and psoriasis (9).

In this study the primary objective was to evaluate the safety of oral administration of MTX to patients with severe CAD and the secondary goal was to evaluate the possibility of the MTX has impact on restenosis after BMS deployment.

METHODS

This was a prospective, nonrandomized, descriptive, open-label, phase II clinical study that recruited 16 patients in the catheterization laboratory of the Clinics Hospital at the Federal University of Pernambuco. This study followed the ethical principles in clinical research and was approved by the Research Ethics Committee (No. 325/11).

The inclusion criteria were: age > 18 years, de novo lesion > 70%, and one of the following: diabetes mellitus (DM); reference vessel diameter < 2.5 mm; or chronic kidney disease stages \geq III associated with reference diameter of the target vessel < 2.75 mm.

The exclusion criteria were: contraindications to MTX administration; severe lung disease; liver or kidney disease; and inability to undergo cine coronary angiography at follow up.

The degree of coronary stenosis was assessed by visual analysis. Patients with stenosis $\geq 70\%$, requiring PCI, were potentially candidates to be enrolled and the study was explained to them and those that accept assigned the informed consent.

Anamnesis, physical examinations were performed to collect clinical and laboratory data. Data were collected using a questionnaire developed for this study.

MTX was administered to patients at a dose of 5 mg/week for 2 weeks before PCI and 4 weeks after PCI.

After PCI with BMS implantation, data on the size and length of stents were collected and clinical and angiographic criteria of procedure success were evaluated.

Patients were monitored clinically every 15 days during the first 2 months after the procedure and monthly from the 3rd to 9th month after PCI. Coronary angiographs were performed in all patients 9 months after PCI.

Clinical restenosis was defined as the occurrence of coronary syndrome or positive ischemia detection test results with moderate or severe ischaemic changes. Angiographic restenosis was defined as $\geq 50\%$ in-stent stenosis or within 10 mm of the proximal and distal stent margins (6,10).

The complications associated with the procedures evaluated included haematoma, allergic reaction, pseudoaneurysm, infections, acute myocardial infarction (AMI), stroke, emergency surgery, retroperitoneal bleeding, arteriovenous fistula, and death only.

The following complications associated with the use of MTX were evaluated: erythematous rash, pruritus, urticaria, photosensitivity, depigmentation, alopecia, ecchymosis, acne, furunculosis, bone marrow depression, leukopenia, thrombocytopenia, anaemia, hypogammaglobulinaemia, haemorrhage, septicaemia, gingivitis, pharyngitis, stomatitis, anorexia, vomiting, diarrhoea, hematemesis, melena, gastrointestinal ulceration, enteritis, liver disease, fatty change, renal failure, azotaemia, cystitis, haematuria, menstrual dysfunction, abortion, birth defects, severe nephropathy, interstitial pneumonitis, headache, drowsiness and blurred vision, hemiparesis, aphasia, paresis, and convulsions.

The statistical analysis was done using SPSS Statistics for Windows, version 21.0. A descriptive analysis was performed and the numerical variables were presented as mean and standard deviation after the normal distribution of the data have been tested by Shapiro-Wilks. Categorical variables were described as percentages.

RESULTS

There was a predominance of male participants, the average age was 62.4 ± 8.3 years, and majority of the patients had an elementary school level of education. Other clinical and sociodemographic characteristics are shown in Table 1.

Table 1. Sociodemographic characteristics

Sociodemographic characteristics	N	%
Sex		
Male	11	68,7
Female	5	31,3
Scholarity		
Illiterate	2	12,5
Elementary school	11	68,7
Fundamental school	3	18,8
Skin colour		
White	9	56,2
Not-white	7	43,8
Monthly income		
Minimum wage	12	75,0

Higher than minimum wage	4	25,0
Neighbourhood		
Within Recife Metropolitan Region	8	50,0
Outside Recife Metropolitan Region	8	50,0
Habitation type		
With basic sanitation	15	93,8
Without basic sanitation	1	6,2

The most frequent risk factors for CAD were hypertension and previous angina (Table 2).

Table 2. Risk factors and patients personal backgrounds

Risk factors and Comorbidities	N	%
Hypertension	15	93,8
Previous angina	14	87,5
Dyslipidemia	13	81,3
Family history	13	81,3
Physical inactivity	11	68,8
Previous acute myocardial infarction	8	50,0
Smoking	8	50,0
Diabetes mellitus	7	43,8
Alcoholic	4	25,0

Analysis of coronary angiograms revealed 26 severe, 21 moderate, and 18 mild stenosis of note, 8 patients had single-vessel disease, 5 had two-vessel disease, and 3 had multi-vessel disease. Coronary artery stenosis were more prevalent in the anterior descending artery (LDA) (Table 3).

Table 3. Distribution of moderated and severe arterial lesions

Coronary artery	moderate lesions ($\geq 50\%$)	severe lesions ($\geq 70\%$)	Total
Anterior descending artery	9	7	16
Left circumflex artery	8	7	15
Right coronary artery	2	12	14
Left main	2	0	2
Total	21	26	47

The average diameter and length of the stents were 3.0 ± 0.4 mm and 18.1 ± 5.9 mm, respectively, as shown in Table 4.

Table 4. Diameter and length of the stents

Patient	Stent diameter	Stent length
1	3.0	23
2	2.5	23
3	2.5	16
4	2.5	23
5	2.5	13
6	3.5	16
7	3.0	20
8	3.5	19
9	2.5	15
10	2.75	15

11	3.5	18
12	3.5	24
13	3.0	24
14	2.5	18
15	3.0	15
16	3.0	28
Mean	3.0	18.1
Standard deviation	0.4	5.9

There were no immediate or late complications associated with PCI. Adverse events and side effects due to use of MTX occurred in 3 patients (prevalence = 18.7%). Of note, 2 patients had skin desquamation on the extremities of the upper limbs and 1 patient had dryness of the oral mucosa. These side effects are classified as minor complications. The MTX was not discontinued and the complications resolved with discontinuation of drug treatment.

There were no reported cases of clinical restenosis. Only one patient had angiographic restenosis (prevalence = 6.2%; however, her myocardial perfusion imaging did not show ischemia).

DISCUSSION

Based on the few side effects observed, this study demonstrated the safety of MTX use in the study population (patients with severe coronary artery disease). In addition, these complications did not result in treatment withdrawal and the symptoms disappeared after discontinuation of the treatment.

There were no reported cases of clinical restenosis. Coronary angiography performed at 9 month follow up showed that angiographic restenosis rates were low. These results are quite satisfactory considering the clinical and angiographic characteristics of the patients enrolled.

Neointimal hyperplasia is the primary component of restenosis after PCI. After deployment of any type of stent, vascular injury occurs, followed by a reparative process, in which occurs migration of vascular smooth muscle cells (VSMC) from the medial layer into the intima, cellular multiplication, and cellular secretion of molecules. These events play an important role in the formation of neointimal hyperplasia (11).

Stents have been used as a platform to carry and release drugs at the site of injuries resulting from percutaneous coronary interventions. The drugs most commonly used in clinical practice are sirolimus (and its analogues) and paclitaxel (12,13).

The limus family drugs (e.g., sirolimus) interrupt the cell proliferation cycle by binding to the intracellular receptor FKBP12. The sirolimus-FKBP12 complex inhibits mTOR protein activity and prevents degradation of p27KIP1, a cyclin-dependent kinase inhibitor that plays an important role in regulation of VSMC migration and healing. Sirolimus is also a potent inhibitor of cell proliferation via deactivation of the p70S6 kinase, a critical step in cell cycle progression, and inhibits growth factors in the G1 phase of mitosis (12,14-15).

Paclitaxel is a cytotoxic drug that suppresses proliferation and migration of endothelial smooth muscle cells, disrupts microtubule dynamics, consequently affecting cells during the transition from the S to G2 phase of mitosis (16-18).

Some cell mitosis inhibitors, including dexamethasone and tacrolimus, have not shown sufficiently positive effects in pre-clinical and clinical studies to allow their use in clinical practice (19).

Before the advent of DES, reduction of restenosis was attempted by oral drug administration. However, the results of the drugs tested were not satisfactory enough to warrant their incorporation into clinical practice (7,20).

Some studies, including the Oral Sirolimus to Inhibit Recurrent In-stent Stenosis (OSIRIS), Oral Rapamune to Inhibit Restenosis (ORBIT), and Prospective, Randomized Oral Rapamycin in Argentina (ORAR) studies, as well as other investigations, evaluated oral use

of rapamycin in more than 470 patients and reported an intermediate efficacy. However, these drugs caused many major side effects, which may have contributed to the lack of interest for phase-III clinical trials (20,21-23).

The high prevalence of side effects reported in these studies was surprising considering that rapamycin has been used in transplanted patients and this high frequency of side effects had not been previously reported (8).

Authors evaluated the neointimal hyperplasia of transplanted kidney patients (taking immunosuppressive therapy) that underwent BMS implantation; they reported that neointimal hyperplasia was minimal and determined 9% of vessel obstructions (24). Studies evaluated the use of MTX and restenosis after percutaneous coronary intervention. In this context, in 1992 an animal study evaluated, among other aspects, whether MTX would have any effect on neointimal hyperplasia after stent deployment. The authors concluded that the amount of neointima did not differ from the amount obtained after using stents alone (25,26).

A little more than two decades after this study, some considerations need to be made about these findings. The stent used in this study was a coil. Nowadays this type of stent is out of market because it did not have good outcomes in clinical studies. The kinetic of drug release was not appropriate because the majority of the drug had been released from the stent during the first hour after deployment. According to stent design only a small percentage of the drug was released to the vessel wall. These release kinetics are considered unacceptable considering recent standards for any experiment involving drug-eluting stents.

In this study the balloon-artery ratio was above 1:1.2. It is known that this kind of model is related to higher possibility of great amount of hyperplasia. Therefore, the large amount of drug delivered in the first hour, the small amount of drug delivered to the vessel wall, and the balloon-artery ratio are factors that may raise doubts about the authors' conclusions.

In 2004 was published a study that compared MTX-eluting stents to SAE coated stents which was done in pigs. In this experiment, the stent-artery ratio was 1:1 and 50% of the drug had been released by 24 hours. The results showed that MTX-eluting stents reduced neointimal hyperplasia (1.22 ± 0.34 mm vs. 2.25 ± 1.28 mm, $p < 0.01$) and in-stent obstruction ($21 \pm 8\%$ vs. $36 \pm 21\%$, $p < 0.01$) (26).

Another aspect that deserves attention was the finding that MTX had no effect on cell proliferation *in vitro*. However, this conclusion was based on an experiment that used cells derived from rabbit aortas and not from stent-treated pigs, which were the basis of the study.

It is possible to imagine how neointimal hyperplasia could have been reduced in this study if MTX had no effect on VSMC proliferation. Therefore, we hypothesize that other mechanisms leading to hyperplasia reduction, e.g. inactivation of the secretory function of VSMC or the effect of MTX on the proliferation of VSMC from rabbit aortas was different from that on pig cells may justify this matter.

In addition, our results allow us to hypothesize that MTX may have beneficial effects on restenosis. It is of note that administration of MTX for 15 days before PCI and its maintenance for 60 days aimed to block inflammation, considered one of the triggers for formation of the neointimal hyperplasia. At the time of the previous studies on MTX, the importance of the kinetic of drug release was not well known.

The prevalence of angiographic restenosis after bare metal stent deployment ranged between 20% and 60% (29). Despite many attempts to reduce restenosis rates, only reduction of the stent structure thickness resulted in reduced restenosis (6).

DES consists of a metal platform with controlled release of antiproliferative agents (with or without polymers). Compared to bare metal stents, these devices reduced clinical restenosis by an average of 70%. Angiographic restenosis after implantation of drug eluting stents has varied, but usually does not exceed 15% to 20% (10).

The efficacy of DES is indisputable and its safety has improved in second- and third-generation devices. However, high costs have limited the introduction of this type of material on a large scale in underdeveloped or developing countries (28-30).

Therefore, the search for low-cost therapies that have a positive effect on restenosis is extremely important for patients living in countries with limited financial resources. Furthermore, the feasibility of effective and safe therapies that are not used in the population due to their high cost should be addressed.

In conclusion, MTX was safe in the study population and raised the possibility of using a low-cost drug with positive effects on restenosis after BMS implantation. However, studies with larger sample sizes are needed to confirm this hypothesis.

ABBREVIATIONS

ADA: Anterior descending artery
 AMI: Acute myocardial infarction
 BMS: Bare-metal stent
 CAD: Coronary artery disease
 DES: Drug-eluting stent
 MTX: Methotrexate
 PCI: Percutaneous coronary intervention
 RA: rheumatoid arthritis
 SAH: Systemic arterial hypertension
 VSMC: Vascular smooth muscle cells

REFERENCES

1. Kubo S, Kadota K, Otsuru S, Hasegawa D, Habara S, Tada T, Tanaka H, Fuku Y, Katoh H, Goto T, Mitsudo K. Everolimus-eluting stent implantation versus repeat paclitaxel-coated balloon angioplasty for recurrent in-stent restenosis lesion caused by paclitaxel-coated balloon failure. *EuroIntervention*, 2015; 10:1-8.
2. Almeida RMS. Myocardial revascularization: comparative cost study between conventional coronary bypass and percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 2005; 20:142-148.
3. Koskinas KC, Chatzizisis YS, Antoniadis AP, Giannoglou GD. Role of endothelial shear stress in stent restenosis and thrombosis. *J Am Coll Cardiol*, 2012; 59:1337-1349.
4. Kim MS, Dean LS. In-stent restenosis. *Cardiovasc Ther*, 2011; 29:190-198.
5. Beohar N, Davidson CJ, Kevin EK, Goodreau L, Vlachos HA, Meyers [SN](#), [Benzuly KH](#), [Flaherty JD](#), [Ricciardi MJ](#), [Bennett CL](#), [Williams DO](#). Outcomes and Complications Associated With Off-Label and Untested Use of Drug-Eluting Stents. *JAMA*, 2007; 297:1992-2000.
6. Eeckhout, E.; Serruys, P.W.; Wijins, W.; Vahanian, A.; Sambeek, M.V.; De Palma, R., *Percutaneous Interventional Cardiovascular Medicine: The PCR-EAPCI Textbook*. PCR Publishing, Minneapolis, MN, USA Europe: Europa Edition, 2012.
7. Chaves AJ, Sousa AGMR, Feres F, Abizaid A, Mattos LA, Staico R, Centemero M, Tanajura LF, Abizaid AC, Rodrigues A, Paes A, Mintz GS, Sousa JE. Pilot Study With an Intensified Oral Sirolimus Regimen for the Prevention of In-Stent Restenosis in de Novo Lesions: A Serial Intravascular Ultrasound Study. *Rev Bras Cardiol Invas*, 2004; 12:172-177.
8. Montalbano M, Neff GW, Yamashiki N, Meyer D, Bettiol M, Slapak-Green G, Ruiz P, Manten E, Safdar K, O'Brien C, Tzakis AG. A retrospective review of liver transplant patients treated with sirolimus from a single center: An analysis of sirolimus-related complications. *Transplantation*, 2004; 78:264-268.
9. Tunali-Akbay T, Sehirlı O, Ercan F, Sener G. Resveratrol Protects Against Methotrexate-Induced Hepatic Injury in Rats. *J Pharm Pharm Sci*, 2010; 13:303-310.
10. Dangas GD, Claessen BE, Caixeta A, Sanidas EA, Mintz GS, Mehran R. In-stent restenosis in the drug-eluting stent era. *J Am Coll Cardiol*, 2010; 56:1897-1907.
11. Chaabane C, Otsuka F, Virmani R, Bochaton-Piallat ML. Biological responses in stented arteries. *Cardiovasc Res*, 2013; 99:353-363.
12. Regar E, Serruys PW, Bode C, Holubarsch C, Guernonprez JL, Wijins W, Bartorelli A, Constantini C, Degertekin M, Tanabe K, Disco C, Wuelfert E, Morice MC. Angiographic findings of the multicenter randomized study with the sirolimus-eluting Bx velocity

- balloon-expandable stent (RAVEL): Sirolimus-eluting stents inhibit restenosis irrespective of the vessel size. *Circulation*, 2002; 106:1949-1956.
13. Colombo A, Drzewiecki J, Banning A, Grube E, Hauptmann K, Silber S, Dudek D, Fort S, Schiele F, Zmudka K, Guagliumi G, Russell ME. 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.
 14. Moses JW, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy C, Caputo RP, Kereiakes DJ, Williams DO, Teirstein PS, Jaeger JL, Kuntz RE. Sirolimus-eluting stents versus standard stents in patients with stenosis in a native coronary artery. *N Engl J Med*, 2003; 349:1315-1323.
 15. Schampaert E, Cohen EA, Schlüter M, Reeves F, Traboulsi M, Title LM, Kuntz RE, Popma JJ. The Canadian study of the sirolimus-eluting stent in the treatment of patients with long de novo lesions in small native coronary arteries (C-SIRIUS). *J Am Coll Cardiol*, 2004; 43:1110-1115.
 16. Tanabe K, Serruys PW, Grube E, Smits PC, Selbach G, Giessen WJVD, Staberock M, de Feyter P, Müller R, Regar E, Degertekin M, Ligthart JMR, Disco C, Backx B, Russell ME. TAXUS III Trial in-stent restenosis treated with stent-based delivery of paclitaxel incorporated in a slow-release polymer formulation. *Circulation*, 2003; 107:559-564.
 17. Hermiller JB, Raizner A, Cannon L, Gurbel PA, Kutcher MA, Wong SC, Russell ME, Ellis SG, Mehran R, Stone GW. Outcomes with the polymer-based paclitaxel-eluting TAXUS stent in patients with diabetes mellitus. The TAXUS-IV Trial. *J Am Coll Cardiol*, 2005; 45:1172-1179.
 18. Stone GW, Ellis SG, Cannon L, Mann JT, Greenberg JD, Springgs D, O'Shaughnessy CD, Demario S, Hall P, Popma JJ, Koglin J, Russell ME. *JAMA*, 2005; 294:1215-1223.
 19. Aslanabadi N, Separham A, Beheshti R, Ghaffari S, Sohrabi B. OPTIMA Tacrolimus-eluting stent: A twelve-month clinical follow up with two different periods of dual antiplatelet therapy; 2-month vs. 6-month approach. *J Cardiovasc Thorac Res*, 2012; 4:81-84.
 20. Brito Jr FS, Rosa WCM, Arruda JA, Tedesco H, Pestana JOM, Lima VC. Efficacy and safety of oral sirolimus to inhibit in-stent intimal hyperplasia. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2005; 64:413-418.
 21. Hausleiter J, Kastrati A, Mehilli J, Vogeser M, Zohlnhöfer D, Helmut S, Goos C, Pache J, Dotzer F, Pogatsa-Murray G, Dirschinger J, Heemann U, Schömig A. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral sirolimus for restenosis prevention in patients with in-stent restenosis: The Oral Sirolimus to Inhibit Recurrent In-stent Stenosis (OSIRIS) Trial. *Circulation*, 2004; 110:790-795.
 22. Waksman R, Ajani AE, Pichard AD, Torguson R, Pinnow E, Canos D, Satler LF, Kent KM, Kuchulakanti P, Pappas C, Gambone L, Weissman N, Abbott MC, Lindsay J. Oral rapamycin to inhibit restenosis after stenting of de novo coronary lesions. The Oral Rapamune to Inhibit Restenosis (ORBIT) Study. *J Am Coll Cardiol*, 2004; 1386-1392.
 23. Rodríguez AE, Alemparte MR, Vigo CF, Pereira CF, Llauradó C, Vetcher D, Pocovi A, Ambrose J. Role of oral rapamycin to prevent restenosis in patients with de novo lesions undergoing coronary stenting: results of the Argentina single centre study (ORAR Trial). *Heart*, 2005; 91:1433-1437.
 24. Arruda JA, Costa MA, Brito Jr FS, Tedesco H, Barbosa AHP, Ribeiro E, Pestana JOM, Lima VC. Effect of systemic immunosuppression on coronary in-stent intimal hyperplasia in renal transplant patients. *Am J Cardiol*, 2003; 1:1363-1365.
 25. Cox DA, Anderson PG, Roubin GS, Chou C, Agrawal SK, Cavender B. Effect of local delivery of heparin and methotrexate on neointimal proliferation in stented porcine coronary arteries. *Coron Artery Dis*, 1992; 3:237-248.
 26. Huang Y, Salu K, Liu X, Wang L, Verbeken E, Bosmans J, De Scheerder I. Methotrexate loaded SAE coated coronary stents reduce neointimal hyperplasia in a porcine coronary model. *Heart*, 2004; 90:195-199.
 27. Alvarez Jr W, Kapur NK. Drug-eluting stent technology: A paradigm shift in the treatment and prevention of restenosis. *J Pharm Pract*, 2005; 18:461-478.

28. Stone GW, Midei M, Newman W, Sanz M, Hermiller JB, Williams J, Farhat N, Caputo R, Xenopoulos N, Applegate R, Gordon P, White RM, Sudhir K, Cutlip DE, Petersen JL. Randomized comparison of everolimus-eluting and paclitaxel-eluting stents. *Circulation*, 2009; 119:680-686.
29. Jensen LO, Thayssen P, Christiansen EH, Tilsted HH, Maeng M, Hansen KN, Kaltoft A, Hansen HS, Botker HE, Krusell LR, Ravkilde J, Madsen M, Thuesen L, Lassen JF. 2-year patient-related versus stent-related outcomes. The SORT OUT IV (Scandinavian Organization for Randomized Trials with Clinical Outcome IV) Trial. *J Am Coll Cardiol*, 2012; 60:1140-1147.
30. Kandzari DE, Leon MB, Popma JJ, Fitzgerald PJ, O'shaughnessy C, Ball MW, Turco M, Applegate RJ, Gurbel PA, Midei MG, Badre SS, Mauri L, Thompson KP, Lenarz LA, Kuntz RE. Comparison of zotarolimus-eluting and sirolimus-eluting stents in patients with native coronary artery disease. A randomized controlled trial. *J Am Coll Cardiol*, 2006; 48:2440-2447.

ANEXO A – NORMAS PARA PUBLICAÇÃO

JOURNAL OF PHARMACY & PHARMACEUTICAL SCIENCES

Submissions

- » [Online Submissions](#)
- » [Author Guidelines](#)
- » [Copyright Notice](#)
- » [Privacy Statement](#)

•» [Privacy Statement](#)

Online Submissions

Already have a Username/Password for Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences?

[GO TO LOGIN](#)

Need a Username/Password?

[GO TO REGISTRATION](#)

Registration and login are required to submit items online and to check the status of current submissions.

Author Guidelines

Instructions To Authors Manuscripts (in English and single spaced), together with a cover letter from the author responsible for all correspondence, should be submitted via the online submission process, as a file saved in Microsoft Word (.doc). DO NOT UPLOAD DOCX FILES. Spelling, punctuation, sentence structure, spacing, length, and consistency of usage in form and descriptions should be checked before submission. Please also check References for accuracy. Ensure that all figures and tables are mentioned in the text, and that all references are cited in the text.

Type of Manuscripts: The Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences (JPPS) publishes research articles, research reports, technical notes, scientific commentaries, news, views and review articles in the physical, chemical, biological, biotechnical, clinical, and socioeconomic-pharmacoeconomic, regulatory aspects of the pharmaceutical sciences.

Formulation development studies are only acceptable if they provide a clear advancement in the field. Applying known formulation techniques to another drug does not suffice.

A study of **natural products** will not be accepted if it only reports the pharmacological data of a certain plant or plant extracts. Identification and separation of potential active ingredients coupled with carefully planned pharmacological studies may be acceptable.

Medicinal chemistry papers will be considered if new classes of drugs are studied or if there is a reasonable rationale for developing a new derivative of an old drug. Clear identification and separation of the compounds are needed. Mere synthesis of another derivative will not suffice.

Routine **bioequivalence** studies, i.e., a comparison of the bioavailability of two or more products, will not be accepted for publication.

Analytical method development for formulations will not be acceptable unless it contains experiments with sufficient scientific rigor and breakthrough data.

* * * **English Proof Reading and Writing** Manuscript will be accepted only when the writing style and the use English language are deemed appropriate. Authors may choose to contact editing services such as those listed below with full realization that the Journal accept no responsibility or liability regarding the service rendered and its associated business transaction.

• [Edit My Paper](#)

• [American Journal Experts](#)

• [Scientific Editing](#)

- [BluePencil Science](#)
- [San Francisco Edit](#)
- [Proof-Reading-Service](#)
- [ScienceDocs](#)
- [Alpha Science Editors](#)
- [Language Edit](#)
- [SciTechedit International](#)
- [Asiascienceediting](#)
- [Manuscript Editor Online](#)
- [Cambridge Proofreading LTD](#)
- [Help Plagtracker](#)
- [Psi-On Technical and Consulting](#)

Please submit a single Word.doc version of your manuscript that includes all tables and figures at appropriate locations. The file name should include your last (family) name and a keyword from the title of your manuscript. The file name cannot be longer than 30 characters, and should contain only letters or numbers. Do not use punctuation or symbols in the file name.

Format: For each section, the sub-title appears as BOLD CAPITAL, and subsequent titles as Bold Sentence and then, if required, Bold Italic Sentence. Text should be set in Times New Roman font, 11 point. Leave only one (1) space after periods. Start new paragraphs with an indent except for the first paragraph after a title. Do not use spaces to create indents. Use line returns only at the end of paragraphs and do not put blank lines between paragraphs. Use the Symbol font for symbols and special characters. Do not use equation editors or footnoting utilities in your files. Equations should be numbered consecutively with Arabic numerals in parentheses on the right hand side of the page. Number pages (bottom, centre). Use proper Superscripts and Subscripts, not raised or lowered text.

Title Page: The title page should include the title of the article, author's name with full first name (no degrees), and author's affiliation. The affiliation should comprise the department, institution (usually university or company), city, and state (or nation) and should be typed as a footnote to the author's name. For office purposes, the title page should include the name and complete mailing address including country, and email address of the one author designated to review proofs. The title page should start below the top margin, be single-spaced, and no space left before the Abstract.

Abstract: A structured abstract of fewer than 300 words is required of research articles and reports and should be arranged, in one paragraph, under the following headings: PURPOSE, METHODS, RESULTS, CONCLUSIONS. Review articles also require an abstract, which need not be organized under these headings. The purpose of a structured abstract is to assist authors in organizing their thoughts - not only to highlight their work, but also to aid readers to grasp quickly the essence of the paper.

Novelty of the Work: Provide a brief description of not more than four short sentences regarding the novelty of the paper in the cover letter.

The Main Body of the Manuscript: This section must contain Introduction, Methods, Results and Discussion. **Do not combine Results and Discussion** unless instructed by the Editor.

Under INTRODUCTION clearly state the novelty of the work.

Ethics in Animal and Clinical Investigations: Investigations using experimental animals must adhere to the "Guide to the Care and Use of Experimental Animal Care" (Canadian Council on Animal Care guidelines, 1984). All papers containing animal data must include a statement from your university's Animal Ethics Committee approving your protocol. Investigations with human subjects must follow the Declaration of Helsinki guidelines (1964) and be approved by the institutional human experimentation

committee, or equivalent, and have signed in-formed consent. Ethics Approval for Animal and Human Studies: Statement that approval has been received must be included under the METHODS Section.

Statistical Approach: The number of repeat measurements and the variance of the means must be clearly depicted in the texts and in the illustrations. Reasonable significant figures (usually three) must be used as elaborated in Levy G. Significant figures or significant nonsense? *ClinPharmacolTher*, 59:363, 1996 or [Wikipedia](#).

The significant figures (SF) of a number is all certain digits plus the first uncertain digit. For example, if an assay has a sensitivity of 1 mg/L, a concentration of 32.32 mg/L has one extra uncertain and unnecessary figure. Hence, it should be reported as 32.3 which contains three SFs. See below for calculation of SFs: - 31 has 2 SF - 301 has 3 SFs - 0.022 has 2 SFs (leading zeros don't count - 4.300 has 4 SFs (trailing zeros after decimal point count) - 310 has 3 SFs (rounded off since a trailing zero with no decimal point is ambiguous).

Figures: Figures should be numbered in one consecutive series of Arabic numerals in the order in which they are cited in the text, and designed to fit the column or page size of the Journal. All parts of a figure must be grouped with no segmented text box. Left justify the title below the figure (bold font). Symbols to symbols should be a part of the figure, and not a part of the caption. Use the same typeface for all figures. Labels should be in title case. Figure legends should be informative and self-explanatory.

Tables: Tables should be numbered consecutively (with Arabic numerals), referred to by number in the text and designed to fit the column or page size of the Journal. Prepare numerical illustrations (e.g., tables) using the "table" function (rows and columns). Do not make table using text functions such as tabs, spaces or lines. Hide lines except under the column headings. Left justify the title above the table (bold font). Captions should be typed separately. Table legends should be informative and self-explanatory.

Footnotes: Footnotes should be avoided. When their use is necessary, footnotes should be numbered consecutively using Arabic numerals and should be typed at the bottom of the page to which they refer. Place a line above the footnote, so that it is set off from the text.

Abbreviations: Try to use abbreviations sparingly. When used extensively, provide a list of all non-standard abbreviations on a separate page before the reference section. Use the metric system for all measurements without periods (cm, ml, s). Define all symbols used in equations and formulas. When symbols are used extensively, include a list of all symbols in the notation section. Do not abbreviate the word "Figure" or "Table" in titles or text.

References: References should be numbered consecutively in the order in which they are cited in the text. Cite in the text by the appropriate Arabic numeral enclosed in parentheses, e.g., (1) or (2-5), not super or sub scripted. References to unpublished personal communications should be avoided. Use () for reference citation in the text. Place punctuation AFTER the reference. For each reference, use a single continuous paragraph with no extra space or line break. Do not use "add-ins" such as EndNotes. Abbreviations for journal names should conform to those in the Bibliographic Guide for Editors and Authors (American Chemical Society, Washington, D.C.). Although CSPA accepts various reference formats, the Vancouver style is preferred. Alternatively, the references should conform to the following style and punctuation:

Journal Article: Davies NM, Jamali F. COX-2 selective inhibitors cardiac toxicity: Getting to the heart of the matter. *J Pharm PharmSci*, 2004; 7:332-336.

Book: Mutschler, E.; Derendorf, H., *Drug Actions, Basic Principles and Therapeutic Aspects*. CRC, Ann Arbor, MI, USA, 1995.

Contribution to a Book: Jamali, F., Stereochemically Pure Drugs: An Overview, in Wainer IW: Drayer D (eds), *Drug Stereochemistry: Analytical Methods and Pharmacology*. 2nd ed., Marcel Dekker, INC, New York, NY, pp 375-384, 1993.

Acknowledgments: All acknowledgments (including those for grant and financial support) should be typed in one paragraph directly preceding the reference section. Authors of manuscripts submitted to JPPS are requested to state the source of all funding that enabled the research described to be undertaken.

Manuscript Submission: Manuscripts will be received by Online Submission. Manuscripts are reviewed anonymously by independent referees. To facilitate the review process, the authors should submit

supplementary material such as a cited accepted (but not published) paper, which may be required for assessment of the submitted manuscript. Careful preparation of manuscripts and subsequent review of page proofs are essential, as the authors are responsible for all statements and content.

Copyright and Reference Citation: Submitted manuscripts must not be published previously or be currently under consideration for publication elsewhere. Acceptance of a manuscript for publication in the Journal will automatically place the manuscript under the terms and conditions of Creative Commons license (Attribution-ShareAlike). Authors must cite the source of any quotation or statement inserted in the manuscript.

Authors must obtain permission from publisher for any illustration and table copied or adapted from a published material. Such permissions must arrive in the Journal office via direct e-mail or fax from the publisher or original letter before the manuscript can be published.

Submission Preparation Checklist

As part of the submission process, authors are required to check off their submission's compliance with all of the following items, and submissions may be returned to authors that do not adhere to these guidelines.

1. Have included a novelty statement as instructed under Authors Instruction.
2. Have read the new Author Instructions including the requirement for a novelty statement and the type of manuscript.
3. The text adheres to the stylistic and bibliographic requirements outlined in the [Author Guidelines](#), which is found in About the Journal.
4. The submission file is in Microsoft Word document file format.
5. The submission has not been previously published, nor is it before another journal for consideration.
6. The Authors have read and approved the copyright policy of the Journal which is according to the terms and conditions of [Creative Common license](#) (Attribution-ShareAlike) License.
7. Authors have cited the source of any quotation or statement inserted in the manuscript. Authors have obtained permission from publisher for any illustration and table copied or adapted from a published material. Such permissions must arrive in the Journal office via direct e-mail or fax from the publisher or original letter before the manuscript can be published.
8. Authors will realize that the manuscript will be accepted only when the writing style and the use English language are deemed appropriate. Authors may choose to contact editing services such as those listed above under "English Proof Reading and Writing" with full realization that the Journal accept no responsibility or liability regarding the service rendered and its associated business transaction.

Copyright Notice

Submitted manuscripts must not be published previously or be currently under consideration for publication elsewhere. Acceptance of a manuscript for publication in the Journal is with the authors' approval of the terms and conditions of the Creative Commons copyright license [Creative Common license](#) (Attribution-ShareAlike) License.. Authors must cite the source of any quotation or statement inserted in the manuscript. Authors must obtain permission from publisher for any illustration and table copied or adapted from a published material. Such permissions must arrive in the Journal office via direct e-mail or fax from the publisher or original letter before the manuscript can be published.

Privacy Statement

The names and email addresses entered in this journal site will be used exclusively for the stated purposes of this journal and will not be made available for any other purpose or to any other party. ISSN: 1482-1826