

Radiolesão Vascular como Efeito Deletério da Braquiterapia Intra-Arterial com Dose Elevada de Samário-153 em Coelhos Hipercolesterolêmicos

Vascular Radiolesion as a Deleterious Effect of High-Dose-Rate Intraarterial Brachytherapy with Samarium-153 in Hypercholesterolemic Rabbits

Dalton Bertolim Précoma, Lúcia Noronha, Álvaro Vieira Moura, Ailton Seiji Yamada, José Knopfholz, César Lopes Dusilek, Rita Perussolo, Paulo Roberto Slud Brofman, Márcia Olandoski, José Cláudio Meneghetti

Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Centro de Radioimunoensaio e Medicina Nuclear do Paraná, Instituto do Coração do Hospital das Clínicas - FMUSP - Curitiba, PR - São Paulo, SP

Objetivo: Este estudo tem por objetivo avaliar as alterações vasculares morfológicas e morfométricas induzidas pela braquiterapia com Samário-153 (^{153}Sm) em coelhos hipercolesterolêmicos, com doses elevadas.

Métodos: Foram analisados 43 coelhos hipercolesterolêmicos, brancos, da raça New Zealand, e o total de 86 artérias ilíacas submetidas a lesão por balão de angioplastia. Divididos em três grupos: dois (GI) irradiados com as doses de 15Gy (n=14) e 60Gy (n=36) e um grupo controle (n=36). Foram realizadas avaliação histológica morfométrica e análise histológica qualitativa para análise tecidual.

Resultados: Foram observadas uma redução significativa da neoproliferação intimal (NPI) no GI 15 Gy ($p<0,0001$), uma redução da área de camada média (ACM) ($p<0,0001$) e % estenose ($p<0,0001$) comparada com os demais grupos. O GI 60 Gy teve o maior índice de PNI, aumento da ACM, AV e porcentagem de estenose. No GI 60 Gy, observou-se maior número de células xantomatosas (GI 60Gy:86,11% e GI 15Gy:14,29%, $p<0,0001$), tecido amorfo hialino (GI 60Gy:58,33% e GI 15 Gy:0%, $p=0,0001$) e proliferação vascular (GI60 Gy:30,56% e GI15 Gy:0%, $p=0,0221$). Outras análises teciduais não apresentaram diferença estatística entre os grupos.

Conclusão: A dose elevada de 60Gy ocasionou intensa proliferação celular considerada radiolesão vascular, ao contrário da dose de 15Gy que apresentou excelente inibição da neo-proliferação intimal.

Palavras-chave: Lesão arterial, braquiterapia, samário-153.

Objective: This study was designed to evaluate vascular morphological and morphometric changes induced by brachytherapy with samarium-153 (^{153}Sm) at high doses in hypercholesterolemic rabbits.

Methods: Forty-three New Zealand White hypercholesterolemic rabbits were analyzed, and the total of 86 iliac arteries underwent balloon angioplasty injury. The rabbits were divided into three different groups: two irradiation groups (IG) assigned to 15 Gy (n=14) and 60 Gy (n=36) irradiation doses, respectively, and a control group (n = 36). Histomorphometric and qualitative histological analyses were performed for tissue evaluation.

Results: Significant reductions were found in neointimal proliferation (NIP) ($p<0.0001$), media area (MA) ($p<0.0001$) and percent stenosis ($p<0.0001$) in the 15-Gy IG, compared to the other groups. The 60-Gy IG had the higher rate of NIP, increase in media and vessel areas (VA) and percent stenosis. The 60-Gy IG also showed the greatest number of xanthomatous cells (60-Gy IG: 86.11% and 15-Gy IG: 14.29%, $p<0.0001$) and the highest amount of hyaline amorphous tissue (60-Gy IG:58.33% and 15-Gy IG:0%, $p=0.0001$) and vascular proliferation (60-Gy IG:30.56% and 15-Gy IG:0%, $p=0.0221$). No statistically significant differences were found among groups concerning other tissue analyses.

Conclusion: The high-dose irradiation of 60 Gy resulted in intense cell proliferation considered vascular radiolesion, unlike the 15-Gy dose, which was associated with an excellent inhibition of neointimal proliferation.

Key words: Artery injury, brachytherapy, samarium-153.

Artigo Original

A reestenose permanece um grande desafio na intervenção coronariana desde o advento da angioplastia, sendo motivo de vários estudos sobre as múltiplas opções terapêuticas. Constitui-se numa tentativa de reparo tecidual frente à lesão da parede arterial, cuja resposta se caracteriza pela neoproliferação intimal (NPI) e o remodelamento. Neste mecanismo fisiopatológico, destacam-se a migração e a proliferação de células musculares lisas (CML) e o depósito de matriz extracelular, associados a fenômenos inflamatórios e proliferativos^{1,2,3}.

A braquiterapia intra-arterial começou a ser estudada em trabalhos experimentais em 1994⁴, e em humanos desde 1997.⁵ Desde então a sua importância tem sido demonstrada em aproximadamente 5.000 pacientes, que participam de estudos clínicos randomizados. Nos EUA, são realizados mais de 40.000 procedimentos por ano em 400 centros^{6,7}. A irradiação provoca **modificações fenotípicas que impedem a reprodução celular** pelo ácido desoxiribonucleico (DNA), inibem a proliferação e a migração das células musculares lisas (CML) e diminuem o grau da hiperplasia neo-intimal, pela emissão de radiação localizada⁸. O nosso grupo demonstrou a eficácia na inibição da neoproliferação intimal utilizando pela primeira vez o Samário-153, com a dose de 15 Gy⁹. Vários estudos demonstraram a melhora dos resultados na inibição da NPI comparando-se doses mais elevadas. Entretanto as doses maiores podem causar efeitos deletérios no vaso, como descritos com a utilização de irradiação torácica que afeta os vasos internos¹⁰. Na literatura, há poucas publicações sobre os efeitos da braquiterapia intra-arterial com o uso de doses maiores.

Recentemente, com a demonstração da eficácia dos *stents* recobertos com substâncias antiproliferativas, **houve grande expectativa na redução da reestenose**¹¹. Estudos comparativos demonstraram maior eficácia e segurança em relação à braquiterapia, porém a reestenose é um campo aberto para a pesquisa, pois os métodos disponíveis até o momento não conseguiram solucionar esse problema^{7,12}.

Este estudo tem por objetivo analisar as alterações vasculares morfológicas e morfométricas induzidas pela braquiterapia utilizando-se uma dose elevada de Samário-153 (¹⁵³Sm) em coelhos hipercolesterolêmicos, comparada com uma dose considerada ideal.

Métodos

Experimentação animal - Para a realização deste estudo, o protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal do hospital. Foram utilizados 43 coelhos brancos da raça New Zealand (*Oryctolagus cuniculus*), com a média de 4 meses de idade, com o peso de $2,6 \pm 0,5$ Kg, tratados previamente com ração de colesterol a 2%, 14 dias antes do procedimento e mantida até o dia do sacrifício.

Os animais foram anestesiados com xilazina (dose de 5mg.Kg-1) associada a ketamina (dose de 3,5mg.Kg-1), por via intramuscular na região da coxa. Após o período de dois a quatro minutos, foi realizada tricotomia nas regiões inferior do abdome e inguinal e uma incisão na pele de 2 a 3cm de extensão no sentido longitudinal na prega inguinal. Foram expostas as artérias femoral direita e esquerda e, por meio de pequena arteriotomia transversal, foi introduzida uma guia metálica número 0,014 por onde se deslizou o cateter-balão

de 3,0mm de diâmetro por 20mm de comprimento (raio balão/artéria de 2,5:1), que foi inserido no lúmen da artéria ilíaca direita (AID) e artéria ilíaca esquerda (AIE).

Nesse local o balão foi insuflado com solução salina isotônica com a pressão de 5atm pelo período de 5 minutos, em 18 coelhos (36 artérias) que constituíram o grupo-controle (GC). O mesmo procedimento foi repetido em 7 coelhos (14 artérias), e, nestes, o balão foi insuflado com solução ¹⁵³Sm-EDTMP para expor a dose de 15Gy a 1 mm da superfície do vaso (GI15Gy), por 13min e 38s. No terceiro grupo, com 18 coelhos (36 artérias), o balão foi insuflado com a dose calculada para atingir 60 Gy a 1mm da superfície do vaso (GI 60Gy) por 6min e 22s no primeiro dia. Nesta fase foi colhido sangue para a dosagem de colesterol.

Após 30 ± 1 dias, os animais foram sacrificados com dose letal de barbitúricos. Imediatamente após foi realizada uma laparotomia com acesso até a aorta e artérias ilíacas as quais foram lavadas com formaldeído a 10% durante 10 minutos. Foi retirado o bloco composto de aorta terminal e artérias ilíacas, fixadas em formalina e encaminhadas para análise histológica (vide Figura 1).

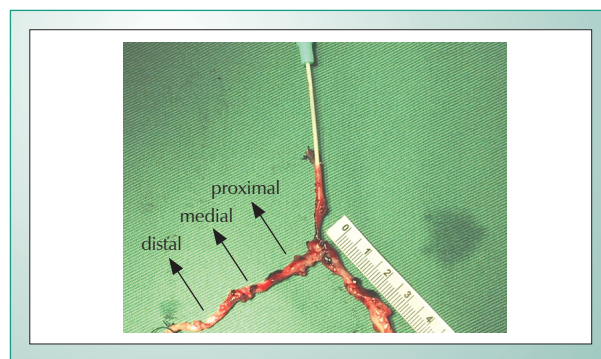


Fig. 1 - Esquema demonstrando o bloco aorta-ilíacas e o resultado de seus cortes transversais.

Preparo das amostras - Após fixação por 24 horas, foram retiradas 3 a 6 amostras de cada artéria ilíaca em cortes transversais, com 2 a 3mm de espessura cada, que representam os segmentos proximais, mediais e distais em ambas artérias, em todos os animais. Os segmentos mediais representavam a área central de maior contato com o balão de angioplastia. Os segmentos proximais e distais da artéria ilíaca de cada lado, denominados de referenciais, correspondiam às extremidades em relação à área central de maior contato com o balão de angioplastia. Também foram obtidas amostras aleatórias de segmentos de aorta. O material foi processado conforme técnica convencional, sendo obtidas 110 lâminas coradas com hematoxilina-eosina (HE) e elástica de Hardt (orceína) e 521 cortes transversais das artérias ilíacas (fig. 2)

Análise histológica qualitativa - Todas as lâminas foram analisadas de maneira cega, em microscópio de 5 cabeças Olympus® BX 40, sendo observadas as seguintes variáveis em todos os cortes realizados: a) grau de lesão vascular; b) grau de lesão da lâmina elástica interna (LEI) e lâmina elástica externa (LEE); c) padrão lesional da adventícia; d) alterações tissulares gerais: d1) proliferação vascular, d2) recanalização vascular, d3) material amorfo hialino, d4) teleangiectasia,

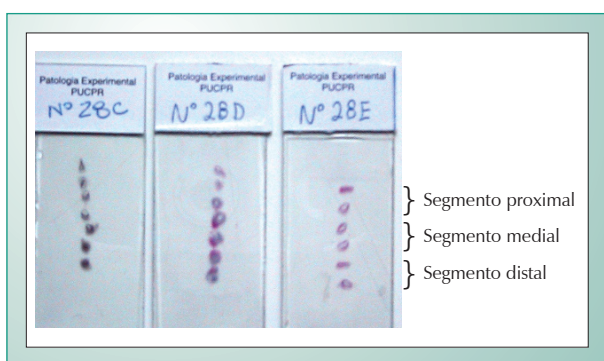


Fig. 2 - Demonstrativo da disposição dos cortes nas lâminas dos três segmentos (proximal, medial e distal).

d5) características do endotélio, d6) tecido de granulação e fibrose, d7) atipias celulares, d8) células xantomatosas, d9) trombose vascular e d10) necrose fibrinóide.

Essas variáveis foram classificadas conforme o escore exposto na Tabela 1. (Classificação modificada de Schwartz ¹³)

Escore	Lesão da LEI/LEE	Schwartz
0	Ausente	LEI intacta, média pode estar comprimida
1	Compressão	LEI lacerada, média comprimida
2	Delaminação	LEI lacerada, média lacerada, LEE intacta
3	Lesão focal	LEI lacerada, média lacerada com extensão para LEE
4	Lesão Múltipla	
5	Destruição Total	

LEI: Lâmina elástica interna; LEE: Lâmina elástica externa

Tabela 1 - Classificação anatomopatológica das alterações e histológicas presentes nos diversos grupos

Análise histológica morfométrica (quantitativa) - A leitura morfométrica foi realizada a fim de se determinar o lúmen arterial, a LEI, a LEE, área da neo-íntima (ANI), área da camada média (ACM) e área do vaso. A leitura das lâminas foi realizada por meio do programa Pro Image-plus® v.4,5 para Windows®, acoplado a microscópio Olympus® BX50 e câmara de vídeo Sony®, utilizando-se o aplicativo chamado morfometria de "área", calibrado previamente em μm com a objetiva de quatro vezes. As medidas foram transferidas para o programa Excel Windows®. As medidas morfométricas foram realizadas em todas as secções transversais da lâmina, no sentido proximal do corte próximo da identificação da lâmina para o distal. Foram desprezados os segmentos com artefatos que impossibilitavam as medidas.

Para avaliar a área luminal (AL), ANI, a ACM e a área do vaso, foram utilizados os seguintes critérios (fig. 3):

a) AL: determinada por uma linha traçada junto ao perímetro da borda luminal;

b) ANI: determinada por uma linha traçada sob a borda luminal e a linha do perímetro da LEI, isto é, AL- LEI;

c) ACM: determinada pelo perímetro da LEI e da LEE, isto é, LEE-LEI;

d) Área do vaso: compreendendo a área da LEE mais a ANI (LEE + ANI).



Fig. 3 - Secção transversal com as medidas morfométricas delineando o lúmen e as lâminas elásticas interna e externa.

Graus de lesões do vaso - Adotou-se a classificação anatomopatológica para alterações histológicas dos graus de lesões do vaso, baseada em escores (tab. 1). Em cada vaso, foi comparado o segmento medial com os segmentos referenciais (proximal e distal).

Análise estatística - A análise estatística foi realizada utilizando-se o programa Statistica/w. Para a comparação entre os grupos em relação às variáveis contínuas, adotou-se a análise de variância (ANOVA) e o teste LSD para comparar os grupos dois a dois. Para investigar o grau de associação entre a ANI e a ACM, estimou-se o coeficiente de correlação de Pearson e testou-se a existência ou não de correlação entre as variáveis.

As variáveis correspondentes às características celulares e ao grau de lesão vascular foram analisadas por meio do teste Exato de Fisher, comparando-se os grupos dois a dois.

Em relação ao grau de lesão avaliado pela classificação de Schwartz, para a comparação dos grupos dois a dois, adotou-se o teste não-paramétrico de Mann-Whitney.

As variáveis contínuas foram expressas em média $\pm$ desvio-padrão e as variáveis categóricas em frequências e percentuais. As comparações foram feitas considerando-se o nível de significância corrigido de Bonferroni ($p < 0,0167$ para grau de lesão e $p < 0,0125$ para alterações tissulares e variáveis morfométricas). Nos demais testes estatísticos, valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes.

Resultados

A média do colesterol total foi de $1362,28 \pm 273,00$ mg/dl.

1. Análise histológica morfométrica (mensurações quantitativas)

Artigo Original

de área) - Esta análise foi feita considerando-se as variáveis: ANI, ACM, área do vaso e a razão entre a ANI/ACM. Na Tabela 2, são apresentados os resultados de médias e desvios-padrões dessas variáveis para cada um dos grupos e os valores de p obtidos nas comparações de médias entre os grupos.

1.1 Área neo-intimal (ANI) - Houve significativa redução da área da neo-íntima no GI 15 Gy quando comparada aos outros grupos. Houve diferença estatística entre os grupos com $p < 0,0001$, pela análise de variância (ANOVA). Na comparação dos grupos dois a dois, constatou-se diferença estatisticamente significativa entre os GC e GI 15Gy ($p = 0,0007$), entre os GC e GI 60Gy ($p = 0,0121$) e entre os GI 15Gy e GI 60Gy ($p < 0,0001$), pelo teste LSD. Em média, a ANI do GI 15Gy é 2,5 vezes menor do que a ANI do GC e 3,6 vezes menor do que a ANI do GI 60Gy. O GC é 1,4 vezes menor do que o GI 60Gy.

1.2 Área da camada média (ACM) - O GI 60Gy teve a maior ACM. Na comparação entre os grupos em relação à ACM, foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os GC e GI 60Gy ($p < 0,0001$) e entre os GI 15Gy e GI 60Gy ($p < 0,0001$). Não houve diferença significativa na comparação dos GC e GI 15Gy ($p = 0,0516$). Em média, a ACM do GI 15Gy é 1,3 vez menor do que o GC e 1,9 vez menor do que o GI 60Gy. No GC a ACM é 1,5 menor do que o GI 60Gy.

1.3 Relação entre a ANI e ACM - A razão entre ANI/ACM foi menor no GI 15Gy, com diferença estatística entre os grupos ($p = 0,0018$). A razão entre ANI/ACM apresentou diferença estatisticamente significativa entre os GC e o GI 15Gy ($p = 0,0016$), e entre os GI 15Gy e GI 60Gy ($p = 0,0010$), o mesmo não ocorreu quando se compararam os GC e GI 60Gy. Em média, a razão ANI/ACM é 1,8 vez menor no GI 15Gy em relação ao GC e 1,9 vez ao GI 60 Gy. A relação média entre o GC e o GI 60Gy foi de apenas 1,02 vez.

1.4 Área do vaso - A maior área do vaso foi encontrada no GI 60Gy, com $2,49 \pm 0,73 \text{ mm}^2$, que apresentou uma proporção 38% maior do que o GI 15Gy e 22% do GC. A análise de variância (ANOVA) mostrou significância estatística, com $p < 0,0001$ (tab. 2). Considerando-se a análise grupo a grupo, houve diferença estatística entre os grupos irradiados e entre o GI 60Gy e o controle, com valores de $p = 0,0001$ e $p = 0,0014$, respectivamente, pela análise LSD.

2. Graus de lesões vasculares - O grau de lesão vascular analisada pela classificação de Schwartz e cols.¹³ (tab. 1) foi mais freqüente no GI 60Gy, principalmente no segmento medial, com diferença estatística entre o CG ($p = 0,0046$) e o GI 15Gy ($p = 0,0391$) (tab. 3).

Utilizando-se a classificação para as lesões da LEI (tab. 1), obteve-se maior grau de lesão nos segmentos mediais dos três

Variável	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)	Valor p*
ANI	$0,38 \pm 0,26$	$0,15 \pm 0,11$	$0,55 \pm 0,28$	$< 0,0001$
ACM	$0,43 \pm 0,18$	$0,33 \pm 0,08$	$0,64 \pm 0,19$	$< 0,0001$
ANI/ACM	$0,83 \pm 0,43$	$0,44 \pm 0,27$	$0,85 \pm 0,35$	$0,0018$
Área do vaso	$1,94 \pm 0,78$	$1,55 \pm 0,39$	$2,49 \pm 0,73$	$< 0,0001$

GC: grupo-controle; GI 15 Gy: grupo irradiado 15 Gy; GI 60 Gy: grupo irradiado 60 Gy. ANI: área neo-intimal; ACM: área da camada média; ANI/ACM: razão entre a área neo-intimal e a área da camada média
(*) ANOVA

Tabela 2 - Médias e desvios-padrão (em mm²) das variáveis morfométricas para cada grupo e valores de p nas comparações de médias entre os grupos

Grau de Lesão	Medial			Referencial		
	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)
< 2	33 (91,67%)	13 (92,86%)	22 (61,11%)	35 (97,22%)	14 (100%)	32 (88,89%)
≥ 2	3 (8,33%)	1 (7,14%)	14 (38,89%)	1 (2,78%)	0 (0%)	4 (11,11%)

Grupos comparados	Valor de p*	
	Medial	Referencial
GC x GI 15 Gy	1,0000	1,0000
GC x GI 60 Gy	0,0046	0,3570
GI 15 Gy x GI 60 Gy	0,0391	0,5660

GC: grupo-controle; GI 15 Gy: grupo irradiado 15Gy; GI 60 Gy: grupo irradiado 60 Gy. (*) Teste exato de Fisher

Tabela 3 - Grau de lesão do vaso conforme os segmentos do vaso (Schwartz)¹³

grupos, porém na análise de grupo *versus* grupo não houve diferença estatística. (tab. 4)

Para análise do grau de lesão da LEE, foi empregada a classificação semelhante à LEI (tab. 1). Comparando-se grupo *versus* grupo, foi observado maior grau de lesão da LEE para o segmento medial no GI 60Gy, com diferença estatística entre o GC ($p=0,0086$) e o GI 15Gy ($<0,0001$). Não houve diferença entre o GC e o GI 15Gy. (tab. 5)

3. *Análise histológica qualitativa* - As variáveis qualitativas observadas foram as células xantomatosas, tecido hialino e amorfo, proliferação vascular e tecido de granulação e fibrose.

A presença de células xantomatosas de grau moderado/acentuado foi observada principalmente no GI 60Gy em 86,11% das artérias, e em 33,33% no GC; houve uma diferença estatisticamente significativa entre esses grupos, com $p<0,0001$. Quando comparados os grupos de artérias irradiadas, o GI 60Gy apresentou predominância sobre o GI 15Gy, com 86,11% e 14,29%, respectivamente, com diferença estatisticamente significativa, com $p<0,0001$, pelo teste de Fisher. Não houve diferença entre o GC e o GI

15Gy. Os valores estão especificados na Tabela 6, e os cortes histológicos na Figuras 4 e 5.

O tecido de granulação e fibrose esteve presente em 27,78% no GC; 71,43% no GI 15Gy e 63,89% no GI 60Gy. Na comparação entre os grupos observou-se significância estatística entre GC e GI 15 Gy ($p=0,0089$) e entre GC e GI 60Gy ($p=0,0042$), pela análise do teste de Fisher. As freqüências e os percentuais são demonstrados na Tabela 6 e os cortes histológicos, na Figura 6.

O material amorfo e hialino foi observado no GC em 13,89% dos casos e em 58,33% no GI 60Gy. Não ocorreu alteração no GI 15Gy. Houve significância estatística quando comparados os GC e GI 60Gy ($p=0,0002$), e os grupos GI 15Gy e GI 60Gy ($p=0,0001$), analisados pelo teste Exato de Fisher. Entre os grupos GC e GI 15 Gy não houve significância. As freqüências e os percentuais são demonstrados na Tabela 6.

A proliferação vascular foi predominante no GI 60Gy, presente em 30,56% dos casos. No GC ocorreu em 11,11%. Houve diferença estatisticamente significativa, quando comparados os GI 15Gy e o GI 60Gy, com $p=0,0221$. A

Medial				Referencial		
Grau de Lesão	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)
< 2	11 (30,56%)	2 (14,29%)	8 (22,22%)	21 (58,33%)	10 (71,43%)	16 (44,44%)
≥ 2	25 (69,44%)	12 (85,71%)	28 (77,78%)	15 (41,67%)	4 (28,57%)	20 (55,56%)

Grupos comparados	Valor de p*	
	Medial	Referencial
GC x GI 15 Gy	0,3030	0,5218
GC x GI 60 Gy	0,5936	0,3457
GI 15 Gy x GI 60 Gy	0,7042	0,1192

GC: grupo-controle; GI 15 Gy: grupo irradiado 15Gy; GI 60 Gy: grupo irradiado 60 Gy. (*) Teste exato de Fisher

Tabela 4 - Grau de lesão da Lâmina Elástica Interna (LEI) dos segmentos mediais e referenciais de cada grupo

Medial				Referencial		
Grau de Lesão	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)
< 2	16 (44,44%)	11 (78,57%)	5 (13,89%)	24 (66,67%)	13 (92,86%)	17 (47,22%)
≥ 2	20 (55,56%)	3 (21,43%)	31 (86,11%)	12 (33,33%)	1 (7,14%)	19 (52,78%)

Grupos comparados	Valor de p*	
	Medial	Referencial
GC x GI 15 Gy	0,0560	0,0783
GC x GI 60 Gy	0,0086	0,1582
GI 15 Gy x GI 60 Gy	<0,0001	0,0035

GC: grupo-controle; GI 15 Gy: grupo irradiado 15Gy; GI 60 Gy: grupo irradiado 60 Gy. (*) Teste exato de Fisher

Tabela 5 - Grau de lesão da Lâmina Elástica Externa (LEE) dos segmentos mediais e referenciais de cada grupo

Artigo Original

comparação dos demais grupos não apresentou diferença estatística. Os valores estão especificados na Tabela 6.

Discussão

Utilizando-se a classificação de lesão vascular modificada

de Schwartz RS et al¹³, observamos maiores graus de lesão vascular na LEE, no grupo da dose elevada de Samário-153 (GI 60 Gy). Os maiores graus de lesão da LEE podem indicar maior comunicação entre a camada média e a adventícia. Essas alterações sugerem que o efeito não deve ser dado somente pelo trauma do balão, uma vez que os outros grupos

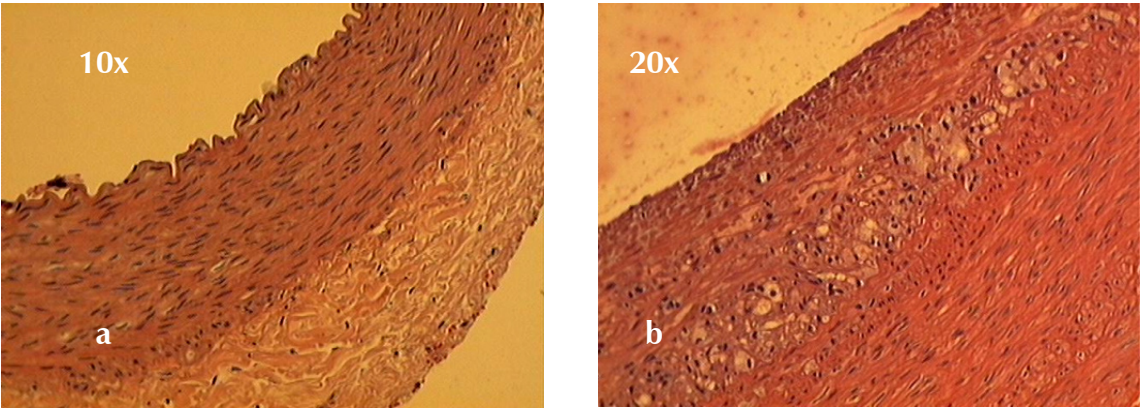


Fig. 4 - a) célula xantomatosa ausente em corte transversal de aorta. b) células xantomatosa grau discreto em cortes transversal de artéria do GI 60 Gy.

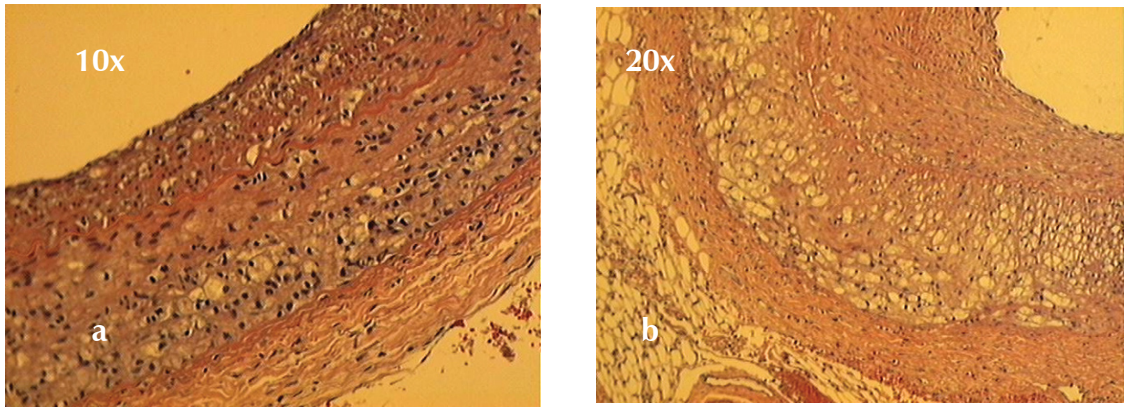


Fig. 5 - a) célula xantomatosa de grau moderado em corte transversal de artéria do GC. b) célula xantomatosa de grau acentuado corte transversal de artéria do GI 60 Gy.

Variável	GC (n=36)	GI 15 Gy (n=14)	GI 60 Gy (n=36)	Valores de p*
Proliferação vascular	4 (0,01;0,21)	0	11 (0,16;0,46)	0,0221*
Tecido de granulação e fibrose	10 (0,13;0,42)	10 (0,48;0,95)	23 (0,48;0,80)	0,0089** 0,0042***
Célula xantomatosa	12 (0,18;0,49)	2 (0;0,33)	31 (0,75;0,97)	<0,0001* 0,0001***
Material amorfo e hialino	5 (0,03;0,25)	0	21 (0,42;0,74)	0,0001* 0,0002***

GC: grupo-controle; GI 15 Gy: grupo irradiado 15Gy; GI 60 Gy: grupo irradiado 60 Gy. Valor de p: Teste exato de Fisher (*) GI 15 Gy x GI 60 Gy
(**) GC x GI 15 Gy (***) GC x GI 60 Gy

Tabela 6 - Alterações tissulares encontradas nos diversos grupos estudados – Frequências e intervalos de 95% de confiança para as proporções de presença

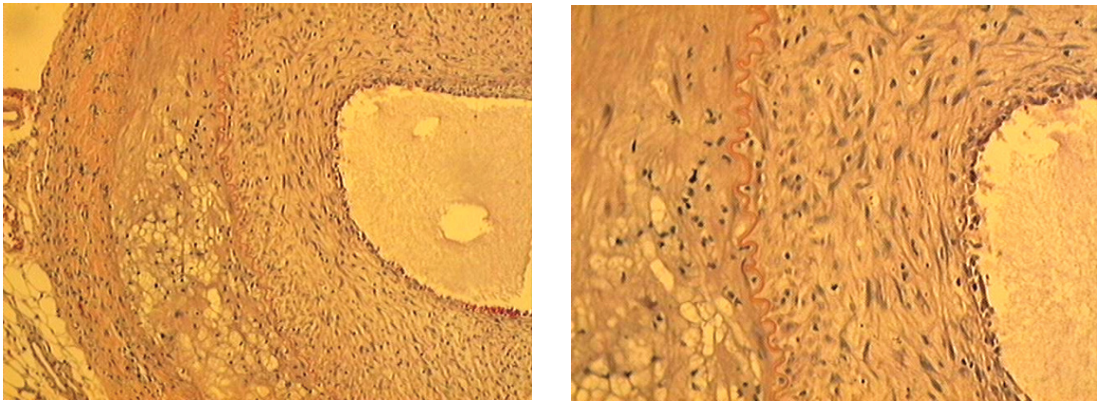


Fig. 6 - Artéria irradiada 60 Gy, com tecido de granulação e fibrose.

(GC e GI 15 Gy) também foram submetidos à mesma pressão, mas também pela elevada dose de irradiação, que favoreceu as modificações estruturais na LEE.

Não houve diferença estatística entre os grupos para os graus de lesão na LEI, apesar de esta estar mais predisposta ao comprometimento pelo barotrauma do balão de angioplastia. A LEI tem a função de manter a estrutura do vaso, servindo como barreira entre a íntima e a camada média, impedindo a migração de células e macromoléculas. A sua estrutura é composta de fibras elásticas delgadas com fenestrações que variam conforme as espécies^{13,14}. A presença de células xantomatosas freqüentes no espaço intimal é citada como característica típica de radiolesão quando se associa à hipercolesterolemia. Kwon et al¹⁵, estudando as mudanças estruturais da LEI em suínos hipercolesterolêmicos, notaram que há aumento da comunicação entre a íntima e a camada média. Achados semelhantes foram observados neste estudo. Embora não tenha sido demonstrada lesão significativa da LEI entre os grupos, as modificações estruturais da LEI associam-se com significativa comunicação entre a íntima e a camada média, sendo evidenciadas pelo aumento da presença de células xantomatosas. As artérias irradiadas com 60Gy apresentaram o predomínio dessas células no grau moderado e acentuado, sendo observadas em 86,11% dos segmentos arteriais analisados, e somente em 33,33% no grupo-controle e 14,29% no grupo irradiado com 15Gy, com significância estatística entre os grupos ($p < 0,0001$). O aumento da área da camada média reflete tais alterações estruturais.

Estudos têm demonstrado a utilidade da irradiação com emissores beta na prevenção da reestenose¹⁶. Waksman et al¹⁷ testaram diferentes doses absorvidas, utilizando 7, 14, 28 e 56Gy de ⁹⁰Sr/Y, calculadas para atingirem 2,0mm da parede do vaso e resultaram em adequada inibição da proliferação intimal, conforme a progressão das doses, não sendo observada necrose das camadas da artéria. Em nosso estudo, as doses foram calculadas para atingir 1 mm da parede do vaso, com as doses de 15 Gy e 60 Gy, na hipótese de a dose mais exposta obter melhor resultado na inibição tecidual. Contudo, com dose absorvida maior, de 60Gy, foram observados 63,89% de fibrose, em comparação com 27,78% no GC e 71,435% com a dose de 15Gy. Esses achados

sugerem a presença de lesão ocasionada pela irradiação, com a provável penetração exacerbada com a dose absorvida elevada do ¹⁵³Sm de 60Gy. Tal observação é ressaltada ao se analisar o grau de lesão da LEE, que foi 48,5% maior no GI 60Gy do que o GI 15Gy e 31% maior do que o GC. Este fato reforça a hipótese de radiolesão e não lesão pelo trauma do balão de angioplastia. Tal achado corrobora a literatura, sugerindo que essa fibrose seja atribuída à radiação, peculiar aos radioisótopos. Entretanto, com a artéria exposta à dose de 15Gy, não foram observadas as anormalidades celulares e histológicas encontradas com a dose de 60Gy, o que pode sugerir que esses fenômenos são dose-resposta. Esses achados são discutidos por Denham e Hauer-Jensen¹⁸. Eles descrevem a diferença entre a lesão arterial pelo trauma e a lesão pela radiação; esta última envolve uma produção excessiva de citocinas, o acúmulo exagerado de matriz extracelular e a conseqüente fibrose. Trott e Kamprad¹⁰ estudaram os efeitos antiinflamatórios e pró-inflamatórios da radiação, e assinalam a forte correlação com a dose aplicada. Isso pode explicar a diferença encontrada entre os dois grupos de artérias irradiadas neste experimento; com a dose de 15Gy observou-se fibrose semelhante à dose de 60Gy, porém sem a presença de células xantomatosas, material amorfo hialino nem alterações nas áreas intimal e da camada média observadas na dose de 60Gy.

A principal característica do dano vascular após balão de angioplastia é a hiperplasia neo-intimal, um tipo de lesão fibrocelular, que confere limitação ao fluxo sanguíneo. As características principais são a migração das células da camada média, as alterações fenotípica e secreção de matriz celular¹⁹. Essas características conferem uma das principais causas da reestenose em humanos submetidos a angioplastia por balão, além do recolhimento elástico da parede arterial. A braquiterapia intra-arterial nos últimos anos tem sido utilizada como uma das principais terapêuticas da reestenose, por meio de doses específicas e atua como um supressor do crescimento celular.^{20,21} Semelhantes observações foram evidenciadas neste estudo, no qual se encontraram resultados significativos na inibição neo-intimal com a utilização da dose de 15Gy, ao contrário das artérias expostas à dose de 60 Gy, que determinaram os efeitos deletérios da radiolesão, com esta técnica de irradiação intra-arterial.

Conclusão

A irradiação intra-arterial com a dose absorvida de 153-Sm de 15 Gy foi adequada para reduzir a área neo-intimal, a área da camada média e a área do vaso. Na dose absorvida de 60 Gy, foi observado aumento significativo das variáveis morfológicas, além da presença significativa de padrões celulares anormais, tais como: células xantomatosas e material amorfo hialino, dados estes compatíveis com efeitos de radiolesão arterial.

Referências

1. Clowes AW, Schwartz SM. Significance of quiescent smooth muscle migration in the injured rat carotid artery. *Circ Res* 1985; 56:139-45.
2. Galis ZS, Khatri JJ. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res* 2002; 90:251-62.
3. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ERM. The Intima: Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res* 1995; 77:445-65.
4. Wiedermann JG, Marboe C, Amols H, Schwartz A, Weinberger J. Intracoronary irradiation markedly reduces restenosis after balloon angioplasty in a porcine model. *J Am Coll Cardiol* 1994; 23:1491-8.
5. Condado JA, Waksman R, Gurdziel O, et al. Long-term angiographic and clinical outcome after percutaneous transluminal coronary angioplasty and intracoronary radiation therapy in humans. *Circulation* 1997; 96:727-32.
6. Sapirostein W, Zuckerman B, Dillard J. FDA approval of coronary-artery brachytherapy. *N Eng J Med* 2001; 344:297-9.
7. Teirstein PS, King S. Vascular Radiation in a Drug-Eluting Stent World It's Not Over Till It's Over *Circulation*. 2003; 108:384.
8. Salame MY, Verheye S, Crocker IR, Chronos NA, Robinson KA, King SB 3rd. Intracoronary radiation therapy. *Eur Heart J* 2001; 22:629-47.
9. Moura A, Yamada A, Hauer D, et al. Samarium-153 for intravascular irradiation therapy with liquid-filled balloons to prevent restenosis: acute and long-term results in a hypercholesterolemic rabbit restenosis model. *Cardiovasc Radiat Med* 2001; 2:69-74.
10. Trott KR, Kamprad F. Radiobiological mechanisms of anti-inflammatory radiotherapy. *Radiother Oncol* 1999; 51:197-203.
11. Goy JJ, Stauffer JC, Siegenthaler M, Benoit A, Seydoux C. A prospective randomized comparison between paclitaxel and sirolimus stents in the real world of interventional cardiology The TAXi trial. *J Am Coll Cardiol* 2005; 45(2):308-11.
12. Herrmann HC. Prevention of cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *NEJM* 2004; 350:2708-10.
13. Schwartz RS, Topol EJ, Serruys PW, Sangiorgi G, Homes DR Jr. Artery size, neointima, and remodeling: time for some standards. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:2087-94.
14. Wong LCY, Langille BL. Development remodeling of the internal elastic lamina of rabbit arteries. *Circ Res* 1996; 78:799-805.
15. Kwon HM, Sangiorgi G, Spagnoli LG, et al. Experimental hypercholesterolemia induces ultrastructural changes in the internal elastic lamina of porcine coronary arteries. *Atherosclerosis* 1998; 139:283-9.
16. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, et al. Intracoronary radiation before stent implantation inhibits neointima formation in stented porcine coronary arteries. *Circulation* 1995; 92:1383-6.
17. Waksman R, Robinson KA, Crocker IR, et al. Intracoronary low-dose β -irradiation inhibits neointima formation after coronary artery balloon injury in the swine restenosis model. *Circulation* 1995; 92:3052-31.
18. Denham JW, Haeur-Jensen M. The radiotherapeutic injury-a complex "wound". *Radiother Oncol* 2002; 63:129-45.
19. Meerkind D, Tardif JC, Crocker IR, et al. Effects of intracoronary beta-radiation therapy after coronary angioplasty: an intravascular ultrasound study. *Circulation* 1999 Apr 6; 99 (13):1660-5.
20. Grise MA, Massullo V, Jani S, et al. Five-year clinical follow-up after intracoronary radiation: results of a randomized clinical trial. *Circulation* 2002; 105:2737-40.
21. Johnson GJ, Griggs TR, Badimon L. The utility of animal models in the preclinical study of interventions to prevent human coronary artery restenosis: analysis and recommendations. On behalf of the Subcommittee on Animal, Cellular and Molecular Models of Thrombosis and Haemostasis of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis. *Thromb Haemost* 1999; 81:835-43.

Agradecimentos

Doutoras Karine Dall'Oglio Tolazzi, Priscila Oliveira Silva e Flávia Ferreira; doutorandos Ruy Fernando Kuenzer Caetano da Silva e Manuela Oliveira, pelo grandioso auxílio na fase experimental.

Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflitos de interesses pertinentes.