Expressão de citoquinas na camada média da parede da artéria ilíaca como resposta à agressão por balão – estudo experimental em coelhos

Cytokines expression in the middle layer of the iliac artery wall as a response to balloon catheter injury – a experimental study in rabbits

Patricia Mollinetti Copat[1], Luiz Guilherme Naclério Torres Junior[2], Gustavo Carvalho e Silva[3]

RESUMO

Objetivo: Avaliar a presença de mediadores pró-inflamatórios na camada média de artéria ilíaca de coelhos agredida por cateter-balão. **Métodos:** Foram estudados dez coelhos da raça Nova Zelândia, pesando entre 3kg e 4kg (idade aproximada de 100 dias). Os animais foram submetidos à angioplastia da artéria ilíaca comum esquerda, com cateter de fogart 4F e 48hs após a dilatação, o segmento aorto--ilíaco dos animais foi ressecado para análise imuno-histoquímica da camada média de ambas as artérias ilíacas, utilizando-se a artéria ilíaca comum direita como controle. A expressão do fator de necrose tumoral-α (FNT-α) e da interleucina 1-β (IL1-β) foi obtida através da técnica de reação da Streptavidina/AP, utilizando-se anticorpos monoclonais específicos. **Resultados:** A IL1-β apresentou expressão significativa na camada média da artéria submetida à angioplastia, enquanto o FNT-α não foi significativo quando comparados com as artérias-controle. **Conclusão:** A camada média da artéria agredida por cateter-balão apresenta resposta inflamatória envolvendo a participação de citoquinas.

UNITERMOS: Angioplastia, Camada Arterial Média, Citoquinas.

ABSTRACT

Objective: *To evaluate the presence of pro-inflammatory mediators in the middle layer of the iliac artery of rabbits injured by balloon catheter.* ***Methods:*** *Ten New Zealand rabbits were studied, weighing 3-4 kg (approximate age 100 days). The animals underwent angioplasty of the left common iliac artery with Fogarty catheter 4F, and 48 hours after dilation the aorto-iliac segment of the animals was resected for immunohistochemical analysis of the tunica media of both iliac arteries, using the right common iliac artery as control. The expression of tumor necrosis factor – α (TNF – &#945) and interleukin 1 – &#946 (IL1 – & # 946) was obtained by Streptavidin/AP reaction technique using specific monoclonal antibodies.* ***Results:*** *IL1-#946 showed significant expression in the middle layer of the artery submitted to angioplasty, while TNF -&# 945 was not significant as compared with the controls.* ***Conclusion:*** *The middle layer of the artery injured by balloon catheter presents inflammatory response involving the participation of cytokines.*

KEYWORDS: *Angioplasty, Middle Layer Artery, Cytokines.*

INTRODUÇÃO

Na nossa sociedade ocidental, nada carrega maior morbimortalidade do que a aterosclerose, pois ela é responsável pela doença isquêmica miocárdica, a maioria dos acidentes vasculares cerebrais, gangrena das extremidades, além da perda de função de órgãos e/ou tecidos. A literatura mais atual a define como um evento crônico, degenerativo--regenerativo e oriundo de um complexo processo, em que participam fatores como: alterações hemodinâmicas e

[1] Médica.
[2] Mestre em Cirurgia, Departamento de Cirurgia Cardiovascular, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Cirurgião Vascular e Endovascular.
[3] Especialista em Medicina de Família e Comunidade, Departamento de Emergência Clínica, Grupo Hospitalar Conceição.

fatores de risco comportamentais, elementos da coagulação, metabolismo das lípides, citoquinas e promotores de crescimento (1,2,3).

Ross propõe que o reparo crônico e continuado da agressão à artéria explica a teoria de resposta à lesão e os mecanismos inflamatórios descritos (4).

O vaso agredido pode ser levado a uma situação de estenose e/ou oclusão, caracterizando um processo fisiopatológico de resposta, resultado de uma cadeia de eventos trombóticos, inflamatórios ou proliferativos, independentemente se foi a íntima ou a adventícia agredida (5,6).

A terapêutica invasiva da doença aterosclerótica demonstrou que a resposta vascular a este trauma determinava um padrão de resposta definido como aterosclerose acelerada, na qual estão presentes a migração e proliferação celular, deposição de matriz extracelular e, mais recentemente, remodelamento geométrico, todos, em última análise, produzindo estenose semelhante à placa aterosclerótica (7).

A célula muscular lisa tem uma participação primordial na formação da hiperplasia miointimal. Postula-se que ocorra uma ativação desta célula, acelerando o processo mitogênico e consequente formação de neoíntima através de inúmeros mecanismos (8).

Há pesquisa crescente que foca na participação de mecanismos inflamatórios em resposta arterial à agressão, em especial a ativação e propagação da resposta imunológica. As células do sistema imune quando ativadas e estimuladas produzem inúmeras substâncias semelhantes a hormônios, chamadas interleucinas ou citoquinas (9).

Estas glicoproteínas regulam diversos processos biológicos importantes: crescimento e ativação celular, inflamação, imunidade, reparo tecidual, fibrose e morfogênese (10).

Diversos são os trabalhos que demonstram aumento da produção de citoquinas em aterosclerose primária, terapêutica cirúrgica ou endovascular (11).

MÉTODOS

Foram utilizados 15 coelhos da raça Nova Zelândia, originados de várias matrizes, com idade superior a cem dias, alimentação independente e fornecidos pelo mesmo produtor.

O estudo foi dividido em duas fases. Os animais eram previamente pesados e, a seguir, anestesiados. Na primeira fase, realizou-se uma inguinotomia transversa esquerda para abordagem da artéria femoral comum e realização de angioplastia da artéria ilíaca comum homolateral.

A segunda fase ocorria 48 horas após a dilatação arterial, em que eram retiradas as peças em bloco para estudo e sacrifício do animal.

Técnica Anestésica

Os animais eram submetidos a um jejum de 8 horas para dieta sólida e de 3 horas para água. A técnica utilizada foi a associação de xilasina e quetamina 1:1, complementada com anestesia geral inalatória, utilizando-se um sistema aberto sem reinalação.

A via de acesso venosa utilizada para a infusão de líquidos (soro glicofisiológico; 20ml/kg/h) e drogas foi a veia marginal da orelha, obtida através de venóclise, com um cateter de teflon 25Fr (Abboth-cath).

A medicação pré-anestésica era aplicada através da via intramuscular, no membro posterior direito do animal, e a anestesia inalatória era obtida com halotano (Halothane 0,5% a 2%), introduzida após o desaparecimento do reflexo óculo-palpebral, inconsciência e relaxamento muscular.

Os animais foram ventilados com oxigênio através de máscara.

Técnica Cirúrgica

A técnica empregada para a realização de uma lesão endotelial por cateter-balão consistia de inguinotomia esquerda transversa. Inicialmente, realizava-se a tricotomia da região seguida de antissepsia com álcool iodado e colocação de campos estéreis. A) realizava-se a incisão transversa de 3cm a 4cm de extensão sobre a prega inguinal esquerda; b) dissecção por planos até exposição da bainha dos vasos femorais, com individualização e reparo delicado da artéria femoral comum esquerda; c) anticoagulação sistêmica com heparina (Liquemine – Roche, 100UI/Kg); d) ligadura arterial distal com fio de seda 4-0 (Ethicon) e realização de arteriotomia transversa imediatamente proximal à ligadura; e) introdução proximal, até 3cm de extensão (testado em modelo-piloto), do cateter de embolectomia tipo Fogarty 4Fr; f) insuflação de seu balão com água destilada em um total de 0,75ml (limite máximo) por duas vezes, com intervalo de 60 segundos, seguida da retirada do cateter insuflado; g) ligadura proximal da artéria femoral com o mesmo fio de seda; h) aproximação dos tecidos por planos utilizando-se fio de vicryl 3-0 (Ethicon).

Os animais eram aquecidos através de iluminação direta até a completa recuperação anestésica.

Na segunda fase, realizavam-se o preparo do campo operatório e a tricotomia de todo o abdômen e regiões inguinais. A sequência da técnica consistia de: a) laparotomia mediana longitudinal por planos até a completa abertura da cavidade; b) exposição do retroperitônio com dissecção da aorta abdominal desde o seu segmento justa-renal até o ligamento inguinal; c) ligadura de todas as colaterais e da aorta justa-renal e introdução de um cateter de aspiração número 4 distalmente para a irrigação dos vasos, com solução salina; d) ligadura das artérias ilíacas externas e infusão de formalina a 10% no interior do segmento aorto-ilíaco sob pressão de 100 mmHg, controlada com manômetro lateral e retirada da peça e fixação em frasco com formalina 10%; e) sacrifício do animal e fechamento por planos da incisão utilizando-se fio de vicryl 2-0 (Ethicon).

Preparo do Tecido para Análise Histológica

Após a fixação do segmento ressecado, as artérias ilíacas comuns esquerdas e direitas foram identificadas, seccionadas, incluídas em blocos de parafina e submetidas a cortes histológicos medindo 4µm de espessura. As lâminas, contendo os cortes dos tecidos, foram preparadas e encaminhadas para a análise imuno-histoquímica e para a coloração com a técnica de Verhoeff, utilizadas para a avaliação morfométrica da parede arterial (12).

Análise Morfométrica

A metodologia da quantificação do espessamento da camada média no sítio da lesão arterial consistiu de análise morfométrica digital, realizada através do programa de morfometria IMAGE-PRO PLUS versão 3.0 (University of Rochester, USA) (13).

As imagens e os cortes histológicos foram digitalizados de imagens obtidas pela microscopia óptica convencional (Microscópio ZEISS, KF), com lentes acromáticas (ZEISS KF), com fototubo e câmera de circuito fechado colorida (Câmera TDK -1204), adaptados a uma placa de vídeo conversora analógica digital, gerando arquivos de imagem mensurados em pixels (programa PHOTO FINISH, 24 milhões de cores) em microcomputador. As imagens foram digitalizadas com aumento microscópico de 100 vezes, e a área da camada média foi delimitada pelas membranas elástica interna e externa (13). As medidas das áreas foram expressas em mm^2, utilizando-se a média de três medidas, fornecidas diretamente pelo programa.

Análise Imuno-histoquímica

A análise imuno-histoquímica dos tecidos coletados foi feita utilizando-se o método da Streptavidina/AP (14).

Inicialmente, fez-se a limpeza das lâminas de vidro com água destilada e solução de organo-silano, seguindo-se uma sequência de desparafenização, bloqueio da avidina e biotina endógena, bloqueio antigênico inespecífico com soro não imune de rato, incubação com anticorpo monoclonal específico, incubação com anticorpo secundário anticamundongo, incubação com o complexo Streptavidina/AP e revelação subsequente.

Os resultados da análise imuno-histoquímica foram avaliados de forma semiquantitativa, pela intensidade da coloração, nas diferentes camadas das paredes arteriais estudadas (intimal e média), adotando-se a seguinte convenção (15): (-) reação ausente, atribuído valor 0; (-/+) reação fraca, atribuído valor 0,5; (+) reação leve, atribuído valor 1; (+/++), reação intermediária, atribuído valor 1,5; (++) reação moderada, atribuído valor 2; (++/+++) reação forte, atribuído valor 2,5; (+++) reação intensa, atribuído valor 3 (14).

Análise Estatística

A análise dos dados foi realizada através de estatística descritiva, utilizando-se a média e o desvio-padrão para as variáveis não categóricas e a mediana para variáveis categóricas. Os resultados foram obtidos com a aplicação do teste de Wilcoxon para amostras pareadas para todas as variáveis do estudo. O nível de significância (p) considerado foi de 5%.

RESULTADOS

Cinco animais foram excluídos do estudo devido a óbito (dois), trombose arterial (dois) e sangramento durante o procedimento (um). Os dez animais restantes completaram o procedimento.

Os animais pesaram 3198 +/- 130,88g. Os valores dos pesos de cada animal, medidos antes do início dos procedimentos cirúrgicos, estão relacionados na Tabela 1.

Durante a retirada das peças e, posteriormente, na análise histopatológica, pode-se verificar a perviedade de todas as artérias lesadas pelo balão, da mesma forma que se demonstrou lesão do tipo II e III nos espécimes estudados, conforme Ip JH *et al* (16).

A medida das áreas das camadas médias das artérias ilíacas direitas dos animais foi 0,77 +/- 0,24 mm^2 e das artérias ilíacas esquerdas foi 0,85 +/- 0,27 mm^2. A análise das medidas demonstrou um aumento não significativo da área da camada média das artérias ilíacas esquerdas após a dilatação com balão (p=0,57), comparada com a área da camada média das artérias contralaterais dos animais.

Tabela 1 – Peso dos animais

Animal nº	Peso (g)
1	3300
2	3050
3	3150
4	3200
5	3280
6	3200
7	3400
8	3320
9	2980
10	3100

Tabela 2 – Resultados da análise morfométrica da parede arterial

Área	Artéria	Média	DP	P
	D	0,77	0,24	
Média				0,57
	E	0,85	0,27	

(D) artéria direita, (E) artéria esquerda (após dilatação), (DP) desvio-padrão.

Tabela 3 – Média das medidas das áreas das camadas médias das artérias ilíacas direitas e esquerdas dos animais após dilatação

N° do animal	Área mm²	
	Artéria direita	Artéria esquerda
1	0,11	0,09
2	0,05	0,07
3	0,05	0,05
4	0,09	0,08
5	0,07	0,11
6	0,08	0,10
7	0,06	0,06
8	0,12	0,09
9	0,06	0,05
10	0,06	0,13

Tabela 4 – Resultados da análise imuno-histoquímica da parede arterial

Variável	Artéria	Mediana	P
	D	0,25	
IL 1-β			0,01
	E	1	
	D	0	
ANPC			0,01
	E	2,5	

(D) artéria direita (E) artéria esquerda (após dilatação com balão).

A Tabela 2 apresenta os resultados da análise das medidas morfométricas das secções transversais das artérias direitas e esquerdas. Os valores das médias e medianas são apresentados na Tabela 3.

A camada média das artérias submetidas à dilatação com balão (esquerdas) apresentou uma expressão significativa de IL lβ (p = 0,01) e de ANPC (p = 0,01), quando comparada às artérias intactas (direitas). Os valores das medianas, obtidos com a aplicação do teste de Wilcoxon (variáveis categóricas) para amostras pareadas, estão indicados na Tabela 4. A Tabela 5 apresenta os resultados da análise imuno-histoquímica da camada média das artérias esquerdas e direitas dos animais obtidos após a dilatação dos vasos com o cateter de embolectomia.

DISCUSSÃO

O tratamento endovascular representa uma atraente opção de restauração da circulação aos membros inferiores de pacientes portadores de arteriopatia obstrutiva.

Ainda que minimizando o trauma cirúrgico, os procedimentos percutâneos utilizados no manejo da aterosclerose imprimem agressão tanto ao endotélio como à camada muscular e adventícia.

Tabela 5 – Expressão de interleucina 1-β e antígeno nuclear de proliferação celular na camada média das artérias direitas e esquerdas após angiolastia

Nº do animal	IL-1β		ANPC	
	D	E	D	E
1	++	+++	-	+
2	+	+	-	+++
3	-	+	-	+++
4	-	-/+	-/+	+++
5	+	++	-	-
6	+	++	-	+
7	-	+	-	+++
8	-	-	-/+	-/+
9	-/+	-/+	-	+++
10	-	-/+	-/+	++

Estudos recentes sugerem que alterações do calibre do vaso, ou remodelamento geométrico, possam ter um papel preponderante no processo de estenose e reestenose. Evidências diretas e indiretas suportam fortemente que a hiperplasia intimal ou a proliferação das células musculares lisas continuam a assumir um papel de destaque na fisiopatogenia de resposta à agressão da artéria (17,18).

Dos diversos modelos animais desenvolvidos para o estudo da resposta da parede vascular à angioplastia, a maioria foca no espessamento parietal e na redução do lúmem vascular (19).

Escolhemos os coelhos pelas características biológicas da espécie, que nos permitem com facilidade uma amostra homogênea de animais com reprodução seriada da lesão vascular adotada, além de apresentarem semelhanças histológicas e anatômicas com relação aos seres humanos, propiciando também facilidade de manejo cirúrgico.

Atualmente, são preferidos os modelos animais que produzem lesão isolada (simples), quando se tenta estudar reestenose, evitando o concurso de lesões ateroscleróticas já existentes para, desta forma, se conseguir homogeneidade do trauma realizado (20).

A opção de agressão indicada neste estudo foi inicialmente descrita por Block, visto que propicia um trauma arterial do tipo III proposto por Ip, na qual tanto o endotélio quanto a camada média são lesados (7-21).

Já se comprovou que 48 horas após a agressão do vaso existe proliferação celular na camada média, seja de forma inicial ou avançada, justificando a escolha do período para o sacrifício dos animais e a retirada das amostras (22-24).

A medida da área da camada média, compreendida entre as membranas elásticas interna e externa, identificadas com a coloração de Verhoeff nos espécimes estudados foi a metodologia aplicada quando se analisou quantitativamente a resposta da muscular depois da lesão por balão (12).

Na amostra estudada, foi observado um aumento não significativo da área da camada média das artérias submetidas à angioplastia em comparação às artérias isentas de

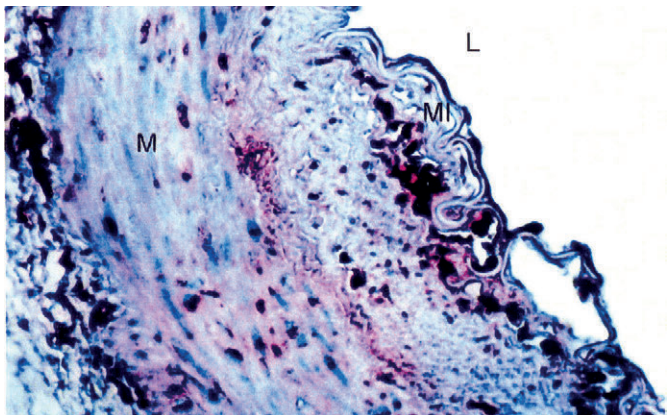


Figura 1 – Artéria ilíaca esquerda submetida à angioplastia do animal 7. Aumento de 400X. A coloração avermelhada indica a presença de ANPC. L indica a luz do vaso, MI a membrana elástica interna e M a túnica média.

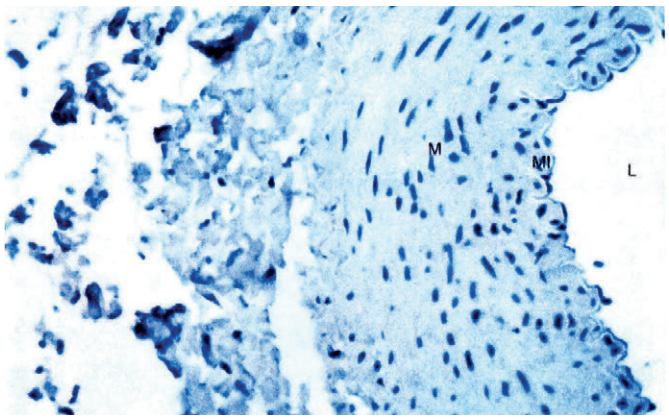


Figura 4 – Artéria ilíaca direita isenta de angioplastia do animal 1. Aumento de 400X. A ausência de coloração avermelhada indica a inexistência de interleucina 1-β. L indica a luz do vaso, MI a membrana elástica interna e M a túnica média.

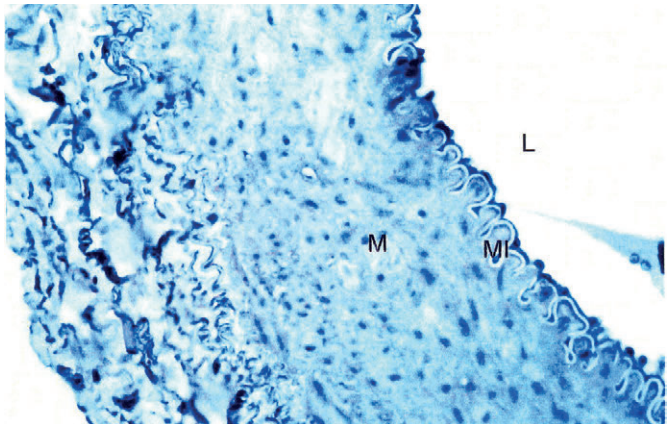


Figura 2 – Artéria ilíaca direita isenta de angioplastia do animal 7. Aumento de 400X. A ausência de coloração avermelhada indica a inexistência do ANPC. L indica a luz do vaso, MI a membrana elástica interna e M a túnica média.

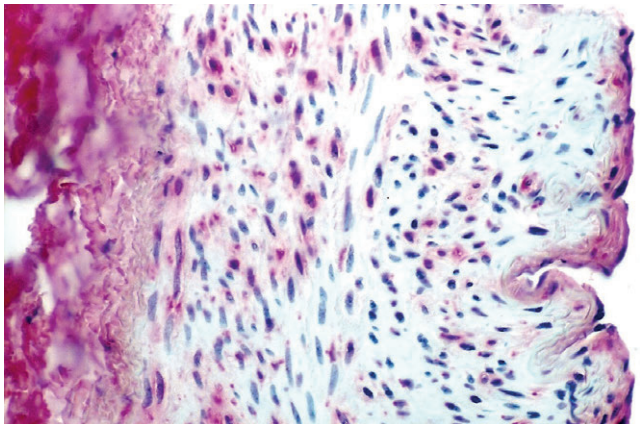


Figura 5 – Artéria ilíaca esquerda submetida à angioplastia do animal 1. Aumento de 400X. A coloração avermelhada indica a presença de interleucina I-β. L indica a luz do vaso, MI a membrana elástica interna e M a túnica média.

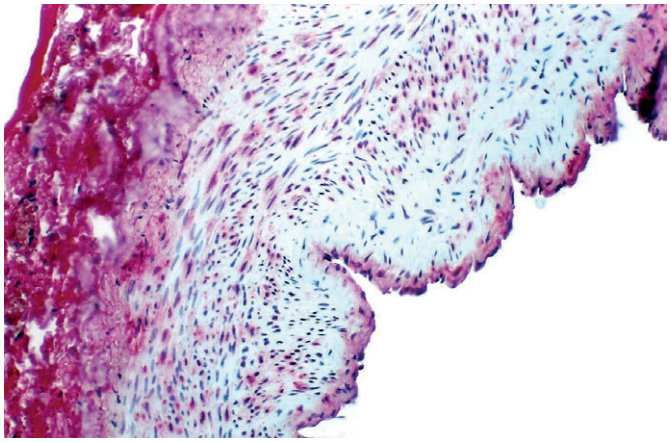


Figura 3 – Artéria ilíaca esquerda submetida à angioplastia do animal 1. Aumento de 200X. A coloração avermelhada indica a presença de interleucina 1-β. L indica a luz do vaso, MI a membrana elástica interna e M a túnica média.

dilatação. O aumento da área mensurada é uma evidência de atividade proliferativa. A variação das médias das medidas encontradas, incluindo a diminuição das áreas das artérias lesadas em relação ao seu controle, nos animais 1, 4, 8 e 9, sugere a presença de remodelamento da parede arterial submetida ao estiramento e consequente adelgaçamento de suas camadas. A aplicação de uma pressão média de 100 mmHg na perfusão com formaldeído a 10% para a fixação dos tecidos pode ter contribuído para esta diferença, embora existam controvérsias. Alguns autores preconizam a fixação do vaso a ser estudado sob uma pressão endoluminal média entre 60 e 120mmHg durante alguns minutos, aplicada isoladamente após a retirada em bloco dos tecidos ou sistematicamente após a eutanásia do animal, enquanto outros não consideram este fato relevante na fixação da peça.

Outros autores demonstraram experimentalmente que, em condições normais, o estado proliferativo da célula muscular lisa é muito baixo (8,15,25,16).

Esta proliferação tem sido detectada imuno-histoquimicamente através de proteínas relacionadas ao ciclo celular, tais como o antígeno nuclear de proliferação celular (ANPC). Essas técnicas são atrativas e eficazes porque não requerem pré-tratamento dos animais com análogos da tirnidina ou bromodeoxy-uridina e podem ser aplicadas aos tecidos embebidos em parafina (27).

A expressão significativa do ANPC encontrado nas amostras estudadas deste trabalho demonstra ter havido uma atividade celular mitogênica na camada média das artérias lesadas por cateter-balão, quando comparadas às artérias isentas de lesão. Este achado foi relatado, o qual demonstrou a presença de 13% de replicação celular após angioplastia contra 2% de proliferação quando ocorria lesão mínima (27).

Porreca *et al.* demonstraram que a proliferação da célula muscular lisa é o evento fundamental na formação de hiperplasia miointimal, atestando observação da presença de atividade proliferativa após agressão à parede do vaso observada neste trabalho, identificada através do ANPC. O mesmo evento é proposto por Reidy, ao demonstrar que a lesão celular resultante da angioplastia é responsável pela liberação de fatores de crescimento ativadores de proliferação da própria célula muscular lisa (28).

Mesmo que o endotélio assuma um papel inicial primordial, quando ativado, na regulação e ativação da resposta vascular, acredita-se que a diferenciação e a proliferação da célula muscular lisa, bem como da produção de matriz extracelular, sejam influenciadas por citoquinas e/ou fatores de crescimento.

Muitas moléculas reguladoras de crescimento e citoquinas podem ser formadas na resposta aterogênica, mas poucas apresentam papel dominante neste processo, destacando-se a IL 1-β e o FNT-α (4).

A IL1-β é um mediador inflamatório multipotente e é produzida por uma grande variedade de células, inclusive as células musculares lisas e as células endoteliais. A detecção de IL l-β na camada média das artérias ilíacas não é incomum, considerando-se os relatos de níveis aumentados observados em artérias humanas ateroscleróticas, normais, e viscerais após transplantes renais e cardíacos (15,29,30).

A expressão significativamente aumentada de IL l-β identificada na camada média das artérias submetidas à angioplastia, observadas neste trabalho, sugere que a resposta inflamatória presente na agressão aguda da parede vascular e no reparo tecidual existente possui a participação desta citoquina (29).

Esses resultados sugerem que, apesar da existência de outros fatores produtores de citoquinas nas artérias não lesadas e de baixa proliferação, o estímulo da célula muscular lisa lesada pelo estiramento e pela compressão durante a angioplastia produziu uma reação inflamatória e mitogênica, e atestam a homogeneidade da amostra e do método, permitindo inferir sobre a possibilidade de baixa reatividade dos anticorpos utilizados (anti-humanos) com a espécie estudada.

O relato de Faries, no qual o pico de expressão da IL 1-β na distribuição temporal dos mediadores bioquímicos da hiperplasia intimal, ocorreu em 48 horas após a agressão. A ausência de coleta em diversos momentos do experimento impede a confirmação deste relato, mas atende à expectativa de expressão significativa presente neste período (31).

CONCLUSÃO

A angioplastia realizada com cateter-balão em artéria ilíaca de coelhos determina uma resposta proliferativa na camada média do vaso (ANPC).

A interleucina 1-β está envolvida na resposta inflamatória e imunológica aguda da camada média da artéria ilíaca de coelhos, após lesão por cateter-balão.

REFERÊNCIAS

1. Mach F, Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling in vascular cells: a key role in atherosclerosis? Atherosclerosis. 1998;137:S89-95.
2. Davies M J, Krikler DM. Catz the atherosclerosis: inhibition or regression as therapeutic possibilities. Br Heart J. 1991;65:302-10.
3. Geary RL, Kohler TR, Vergel S, Kirkman TR, Clowes AW. Time course of flow-induced smooth muscle cell proliferation and intimal thickening in endothelialized baboon vascular grafts. Circ. Res. 1993;74:14-23. PMID:8261588.
4. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. Nature. 1993;362:801-9. PMID:8479518.
5. Wilensky RL, March K, Gradus-Pizlo I, Sandusky G, Fineberg N, Hathaway DR. Vascular injury, repair, and restenosis after percutaneous transluminal angioplasty in the atherosclerotic rabbit. Circulation.1995;92:2995-3005. PMID:7586270.
6. Scott SM, Barth MG, Gaddy LR, Ahl ETJ. The role of circulating cells in the healing of vascular prostheses. J. Vasc. Surg. 1994;19:585-93. PMID:7513028.
7. Ip JH, Fuster V, Badimon L, Badimon J, Taubman MB, Chesebro JH. Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. J. Am. Coll. Cardiol. 1990;15:1667-87.
8. Newby AC, George SJ. Proposed roles for growth factors in mediating smooth muscle proliferation in vascular pathologies. Cardiovasc Res. 1993;27:1173-83. PMID:8252575.
9. Mosmann T. Cytokines and immune regulation in: Rich RR and cols. Clinical Immunology – Principles and Practice; 1996. v. 1. p. 217-30.
10. Libby P, Galis ZS. Cytokines regulate genes involved in atherogenesis. Ann. New York Acad. Sci. 1995;748:158-69. PMID:7695162.
11. Westerband A, Mills JL, Marek JM, Heimark RL, Hunter GC, Willians SK. Immunocytochemical determination of cell type and proliferation rate in human vein graft stenoses. J. Vasc. Surg. 1997; 25:64-73. PMID:9013909
12. Francis SE, Hunter S, Holt CM, Gadsdon PA, Rogers S, Duff GW, Newby AC, Angelini GD. Release of platelet-derived growth factor activity from pig venous arterial grafts. J. Thorac. cardiovasc. Surg. 1994;108:540-8. PMID:8078347
13. Angelini GD, Bryan AJ, Williams HMJ, Soyombo AA, Williams A, Tovey J, Newby AC. Time course of medial and intimal thickening in pig venous arterial bypass grafts: Relationship to endothelial injury and cholesterol accumulation. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 1992;103:1093-103. PMID: 1597973.
14. Bourne JA. Handbook of Immunoperoxidase Stainning Methods. Santa Barbara: Dako Corporation; 1993.
15. Clausell N, Molossi S, Rabinovitch M. Iincreased interleukin-1β. And fibronectin expression are early features of thedevelopment of the postcardiac transplant coronary arteriopaty un piglets. Am. J. Pathol. 1993;142:1772-86. PMID:8506947.

16. Ip JH, Fuster V, Israel D, Badimon L, Badimon J, Chesebro JH. The role of platelets, thrombin and hyperplasia in restenosis after coronary angioplasty. J Am Coll Cardiol. 1991. PMID:2016486.
17. Caramori PRA, Eggers EE, Silva-Fialho APF. Uchoa DM, Jung F, Zago AC, Cerski CTS, Schwartsmann G, Zago AJ. Postangioplastiy restenosis: a pratical model in the porcine carotid artery. Braz J Med Biol Res. 1997;30:1087-91. PMID:9458969.
18. Faxon DP. Mechanisms of angioplasty and pathophysiology of restenosis. Pathophysiology of Restenosis, 1993:5-12.
19. Steele PM, Chesebro JH, Stanson AW, Holmes Jr. DR, Dewanjee MK, Badimon L, Fuster V. Balloon angioplasty. Circ. Res. 1985;57:105-112. PMID:3159504.
20. Muller DWM, Ellis SG, Topol EJ. Experimental models of coronary artery restenosis. J. Am. Coll. Cardiol. 1992; 19:418-32.
21. Block PC, Myler RK, Stertzer S, Fallon JT. Morphology after transluminal angioplasty in human beings. The New Eng. J. Med. 1982;13:382-85. PMID:6973087.
22. Consigny PM, Tulenko TN, Nicosia RF. Immediate and long term effects of angioplasty-balloon dilatation on normal rabbit iliac artery. Arteriosclerosis. 1986:6;265-76. PMID: 2939818.
23. Caramori PRA, Yamamoto GI, Zago A J. Reestenose pós angioplastia. Fisiopatogenia. Arq. Bras. Cardiol. 1997;69: 141-50.
24. Davies MG, Hagen PO. Pathobiology of intimal hyperplasia. Br J Surg. 1994;81:1254-69. PMID:7953384.
25. More RS, Rutty G, Underwood MJ, Brack MJ, Gershlick AH. A time sequence of vessel wall changes in na experimental model of angioplasty. J. Pathol. 1994;172:287-92. PMID:7910851.
26. Strauss BH, Chisholm RJ, Keeley FW, Gotlieb AI, Logan RA, Armstrong GPW. Extacellualr matrix remodeling after balloon angioplasty injuri in a rabbit model os resistenosis. Circ. Res. 1994;75:650-58. PMID:7923611.
27. Clowes AW, Reidy MA, Clowes MMM. Mechanisms of stenosis after arterial injury. Lab Invest. 1983;49:208-15. PMID:6876748.
28. Reidy MA, Yoshida K, Harker LA, Schwartz SM. Vascular injury: quantification of experimental focal endothelial denudation in rats using indium-III-labeled platelets. Arteriosclerosis. 1986;6:305-11. PMID:3707429.
29. Moyer CF, Sajuthi D, Tulli H, Williams K. Synthesis of IL-1 alpha and IL-1 beta by arterial cells in atherosclerosis. Am. J. Pathol. 1991;138:951-60. PMID:2012178.
30. Forsyth EA, Aly HM, Neville RF, Sidawy AN. Proliferation and extracellular matrix production by human infragenicular smooth muscle cells in response to interleukin- 1β. J. Vasc. Surg. 1997;26:1002-8. PMID:9423716.
31. Faries PL, Marin ML, Veith FJ, Ramirez JA, Suggs WD, Parsons RE, Sanchez LA, Lyon RT. Immunolocalization and temporal distribution of cytokine expression during the development of vein graft intimal hyperplasia in an experimental model. J. Vasc. Surg. 1996;24:463-71. PMID:8808969.

✉ Endereço para correspondência
Patricia Mollinetti Copat
Rua Nicola Mathias Falci, 151/1504
91.410-330 – Porto Alegre, RS – Brasil
☎ (54) 9982-3020
patriciacopat@gmail.com

Recebido: 24/11/2015 – Aprovado: 6/12/2015