

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**Análisis del potencial trombogénico de stents de nitinol
sometidos a modificaciones de la superficie**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Francisco Javier Rodríguez Lega

DIRIGIDA POR

Ángel Tomás González Pinto

Madrid

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA



TESIS DOCTORAL

**ANÁLISIS DEL POTENCIAL TROMBOGÉNICO DE STENTS DE NITINOL
SOMETIDOS A MODIFICACIONES DE LA SUPERFICIE**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR

PRESENTADA POR

Francisco Javier Rodríguez Lega

DIRECTOR

Dr. Ángel Tomás González Pinto

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA



**ANÁLISIS DEL POTENCIAL TROMBOGÉNICO DE STENTS DE
NITINOL SOMETIDOS A MODIFICACIONES DE LA SUPERFICIE**

DOCTORANDO:

D. FRANCISCO JAVIER RODRÍGUEZ LEGA

DIRECTOR:

Dr. D. ÁNGEL TOMÁS GONZÁLEZ PINTO

PROGRAMA DE DOCTORADO EN INVESTIGACIÓN

EN CIENCIAS MÉDICO-QUIRÚRGICAS

*«Siéntete orgulloso de ti mismo por el esfuerzo,
especialmente por las partes que nadie ha visto»*

Andrena Sawyer

“ Mi familia es mi fuerza y mi debilidad.”

Aishwarya Rai Bachnan

AGRADECIMIENTOS

En este punto, me gustaría agradecer a todos los que promovieron este trabajo a través de su apoyo.

El presente trabajo se llevó a cabo bajo la dirección del Profesor Ángel González Pinto, jefe del Servicio de Cirugía Cardiovascular del Hospital General Universitario Gregorio Marañón.

Mi agradecimiento especial al Profesor Christian Schlensak, jefe del Servicio del Servicio de Cirugía Torácica, Cardíaca y Vasculares del Hospital Universitario de Tübingen (Alemania) quien promovió inicialmente este trabajo.

Mencionar al Profesor Hans Peter Wendel, jefe ya jubilado del Laboratorio de Investigación de Cirugía Torácica, Cardíaca y Vasculares del Hospital Universitario de Tübingen (Alemania). Sin sus consejos, paciencia y críticas este trabajo no habría sido posible.

Gracias también a los técnicos del Laboratorio de Investigación de Cirugía Torácica, Cardíaca y Vasculares del Hospital Universitario de Tübingen (Alemania). Fueron de gran ayuda a la hora de desarrollar cada una de las fases de las pruebas realizadas. Sin el apoyo rápido y experto, este trabajo no habría sido posible.

Me gustaría expresar mi más profundo e importante agradecimiento a mi mujer Emma por su apoyo incesante.

No puedo dejar de agradecer a toda mi familia su apoyo, en especial a mi padre, a quien de una manera especial va dedicado este trabajo.

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
TABLAS	3
FIGURAS	5
RESUMEN	7
SUMMARY	11
1. INTRODUCCIÓN	15
1.1. Stents	15
1.1.1. Tipos de stents	15
1.1.2. Propiedades del stent ideal	16
1.2. Limitaciones en la implantación de stents	19
1.2.1. Trombosis del stent	19
1.2.1.1. Trombosis del stent precoz	21
1.2.1.2. Trombosis del stent tardía	22
1.2.2. Reestenosis intra-stent	23
1.3. Nitinol	28
1.4. Trombogenicidad	29
1.4.1. Energía de la superficie	33
1.4.2. Potencial de la superficie	34
1.4.3. Estructura de la superficie	34
1.4.4. Composición de la superficie	35
1.5. Antitrombogenicidad en stents	35
1.6. Respuesta biológica de la sangre en contacto con nitinol	36
1.7. Modificaciones de la superficie	37
1.7.1. Modificaciones mecánicas	38
1.7.1.1. Limpieza de los residuos	39
1.7.2. Modificaciones químicas	40
1.7.3. Tratamientos térmicos	41
1.8. Respuesta biológica a las modificaciones de la superficie	42
1.8.1. Respuesta biológica a las modificaciones mecánicas	42
1.8.2. Respuesta biológica a las modificaciones químicas y electroquímicas y a los tratamientos térmicos	42

1.8.2.1. Respuesta de las células endoteliales y las células musculares lisas	42
1.8.2.2. Potencial trombogénico, adsorción proteínica y adhesión plaquetaria	43
1.9. Análisis de la trombogenicidad	44
1.10. Sistema <i>Chandler loop</i>	47
1.10.1. Mecanismo de acción del sistema <i>Chandler loop</i>	47
1.10.2. Justificación de la elección del sistema <i>Chandler loop</i>	48
1.10.3. Diagrama de funcionamiento del sistema <i>Chandler loop</i>	48
1.10.4. Limitaciones del sistema <i>Chandler loop</i>	49
2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	50
2.1. Justificación del estudio e hipótesis	50
2.2. Objetivos	51
2.2.1. Objetivo principal	51
2.2.2. Objetivos secundarios	51
3. MATERIAL Y MÉTODOS	52
3.1. Periodo y población de estudio	52
3.2. Diseño del estudio	52
3.3. Stents de nitinol	53
3.4. Cavitación en bañera de ultrasonidos	53
3.5. Modificaciones químicas de la superficie de los stents de nitinol (postratamientos)	53
3.6. Limpieza con etanol	54
3.7. Almacenamiento de los stents	54
3.8. Muestras de sangre	54
3.9. Incubación en sangre con el sistema <i>Chandler loop</i>	55
3.10. Grupos de pruebas	57
3.11. Descripción de las variables estudiadas	58
3.12. Medición de complejos trombina-antitrombina	58
3.13. Medición de parámetros del hemograma	59
3.14. Análisis estadístico	59
4. RESULTADOS	61
4.1. Mediciones	61

4.2. Análisis estadístico de las mediciones de complejos trombina-antitrombina	66
4.3. Análisis estadístico de las mediciones de plaquetas	70
4.4. Análisis estadístico de las mediciones de hematíes	74
4.5. Análisis estadístico de las mediciones de leucocitos	78
5. DISCUSIÓN	82
5.1. Recuento de complejos trombina-antitrombina (TAT)	83
5.2. Recuento de plaquetas	90
5.3. Recuento de hematíes	95
5.4. Recuento de leucocitos	97
5.5. Limitaciones	100
6. CONCLUSIONES	102
7. BIBLIOGRAFÍA	103

ABREVIATURAS

AAS	Ácido acetilsalicílico
ADP	Adenosín difosfato
ASTM	<i>American Society for Testing and Material</i> (del inglés) Sociedad Americana de Ensayos y Materiales
ANOVA	Análisis de la varianza
BMS	<i>Bare metal stent</i> (del inglés) Stent metálico no recubierto
β-TG	Beta-tromboglobulina
Co	Cobalto
CPE	Célula progenitora de endotelio
Cr	Cromo
DAPT	<i>Dual antiplatelet therapy</i> (del inglés) Tratamiento con doble antiagregación antiplaquetaria
DE	Desviación estándar
DES	<i>Drug eluting stent</i> (del inglés) Stent liberador de medicamentos o drogas
EDRF	<i>Endothelium-derived relaxing factor</i> (del inglés) Factor relajante derivado del endotelio
EEM	Error estándar de la media
Elastasa-PMN	Elastasa polimorfonuclear
ELISA	<i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i> (del inglés) Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas
EP	Electropulido
ET-1	Endotelina-1
Fe	Hierro
FEVI	Fracción de eyección ventricular izquierda
GPa	Gigapascal
Hb	Hemoglobina
IAP-1	Inhibidor del activador del plasminógeno-1
ICP	Intervención coronaria percutánea
IC 95%	Intervalo de confianza del 95%
IL	Interleucina

IS	Incubación en sangre
MEB	Microscopía electrónica de barrido
MPa	Megapascal
min	Minuto
mm	Milímetro
ml	Mililitro
Ni	Níquel
PDGF	<i>Platelet derived growth factor</i> (del inglés) Factor de crecimiento derivado de plaquetas
PEM	Pulido electromagnético
PT	Postratamiento
PTFE	Politetrafluoroetileno o teflón
PU	Poliuretano
PVC	Policloruro de vinilo
RIS	Reestenosis intra-stent
RMN	Resonancia magnética nuclear
SL	Solución de limpieza
Ta	Tántalo o tantalio
TA	Temperatura ambiente
TAT	Complejos trombina-antitrombina
Ti	Titanio
TIMI	<i>Thrombolysis in myocardial infarction</i> (del inglés) Trombolisis en infarto de miocardio
Titanio-CP	Titanio comercialmente puro
TNF	Factor de necrosis tumoral
t-PA	<i>Tissue-type plasminogen activator</i> (del inglés) Activador tisular del plasminógeno
TS	Trombosis de stent
TXA2	Tromboxano A2

TABLAS

1	Propiedades mecánicas de los metales utilizados para fabricar stents	16
2	Materiales con propiedades ideales para el uso en stents coronarios	17
3	Comparación de las propiedades de la reestenosis en stents metálicos no recubiertos (BMS) y stents liberadores de fármacos (DES)	24
4	Grupos de pruebas	55
5	Resultados de las mediciones de complejos trombina-antitrombina	60
6	Resultados de las mediciones de plaquetas	62
7	Resultados de las mediciones de hematíes	63
8	Resultados de las mediciones de leucocitos	64
9	Analítica descriptiva del recuento de complejos trombina-antitrombina	65
10	Complejos trombina-antitrombina. Prueba de Shapiro-Wilk	66
11	Complejos trombina-antitrombina. Comparación post hoc Dunnett	68
12	Analítica descriptiva del recuento de plaquetas	69
13	Plaquetas. Prueba de Shapiro-Wilk	70
14	Analítica descriptiva del recuento de hematíes	73
15	Hematíes. Prueba de Shapiro-Wilk	74
16	Analítica descriptiva del recuento de leucocitos	77
17	Leucocitos. Prueba de Shapiro-Wilk	78
18	Diferencias en el recuento de complejos TAT entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	89
19	Diferencias en el recuento de plaquetas entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	93
20	Diferencias en el recuento de marcadores de la activación plaquetaria entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	94
21	Diferencias en el recuento de hematíes entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	95
22	Diferencias en el recuento de leucocitos entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	97
23	Diferencias en el análisis de activación inflamatoria de leucocitos entre los grupos basal y control en el modelo <i>Chandler loop</i>	98

FIGURAS

1	Depósitos en microscopio electrónico de barrido	46
2	Esquema del sistema <i>Chandler loop</i> para estudios de adhesión de plaquetas	49
3	Bañera de limpieza por ultrasonidos con cubeta SONOREX Super RK 100 H	53
4	Esquema de un sistema <i>Chandler loop</i> modificado	55
5	Sistema <i>Chandler loop</i> modificado utilizado	56
6	Diagrama de cajas del recuento de complejos trombina-antitrombina	68
7	Diagrama de cajas del recuento de plaquetas	72
8	Diagrama de cajas del recuento de hematíes	76
9	Diagrama de cajas del recuento de leucocitos	80
10	Recuento de complejos TAT	84
11	Recuento de complejos TAT con diferencias significativas	85
12	Recuento de complejos TAT sin diferencias significativas	87

RESUMEN

Introducción

El uso de stents intraluminales es una técnica mundialmente extendida hoy en día. En su fabricación se utilizan diferentes metales, aleaciones y diseños. Los tratamientos antiagregantes (mono o doble terapia) mejoran la permeabilidad vascular, limitada por la aparición de trombosis del stent y la reestenosis intra-stent de etiología variable. La realización de modificaciones mecánicas y químicas de la superficie, los tratamientos térmicos y los recubrimientos alteran su potencial trombogénico al modificar la respuesta biológica de la sangre en contacto con el stent

El nitinol tiene propiedades mecánicas que lo hacen ideal para su uso como stent. Los stents, independientemente de su diseño, pueden someterse a diferentes modificaciones de la superficie para mejorar su trombogenicidad. Sin embargo, debido al secreto industrial en la fabricación de los stents hay pocos trabajos publicados que estudien la influencia de las modificaciones de la superficie en la trombogenicidad, no existiendo protocolos estandarizados. La utilización de un modelo *in vitro* *Chandler loop* permite estudiar de qué manera se altera la trombogenicidad tras las modificaciones de la superficie mediante el análisis de diferentes parámetros sanguíneos.

Objetivos

El objetivo principal del presente trabajo fue analizar las diferencias en el potencial trombogénico mediante el recuento de complejos trombina-antitrombina (TAT) como medidores de la trombogenicidad entre combinaciones de modificaciones químicas de la superficie en stents de nitinol.

Los objetivos secundarios fueron:

- Analizar las diferencias en el potencial trombogénico mediante el recuento de plaquetas entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol.
- Analizar las diferencias en la hemólisis mediante el recuento de hematíes entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol.
- Analizar las diferencias en la reacción inflamatoria mediante el recuento de leucocitos entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de

nitinol.

- Validar el sistema *Chandler loop* como método *in vitro* para comprobar la hemocompatibilidad y trombogenicidad en estudios con muestras de sangre humana.

Métodos

Estudio experimental en el que 83 stents de nitinol se sometieron a un proceso de limpieza en una bañera de ultrasonidos con diferentes soluciones de limpieza (cavitación), posteriormente se realizaron diferentes combinaciones de modificaciones químicas de la superficie (pasivación con ácido nítrico (HNO₃), pasivación con peróxido de hidrógeno (H₂O₂), autoclave y ebullición en Ampuwa) divididos en 10 grupos. Tras eliminar la contaminación superficial algunos stents fueron almacenados en tubos de centrifuga durante 3 semanas. Se extrajeron muestras de sangre de 124 personas voluntarias sanas con los siguientes criterios de exclusión:

- Menor de 18 años
- Fumadores
- Consumo de medicamentos en las últimas 2 semanas previas a la extracción de sangre, especialmente aquellos que pueden afectar la hemostasia, como ácido acetilsalicílico, anticonceptivos orales, antiinflamatorios no esteroideos o semejantes.

En un modelo *in vitro* que reproduce las condiciones del cuerpo humano (*Chandler loop*) se realizó una incubación sanguínea durante 60 minutos en los que la sangre estuvo en contacto con los stents. A continuación, se realizaron mediciones en las muestras de sangre en contacto con los stents, así como en un grupo basal y en un grupo control. Se determinaron los complejos trombina-antitrombina mediante la técnica de ELISA y diferentes parámetros del hemograma (plaquetas, hematíes y leucocitos) mediante citometría de flujo.

Se analizaron si había diferencias significativas en el recuento de las variables mencionadas entre el grupo basal y los grupos de muestra ($p < 0,05$). Para determinar qué grupos de pruebas presentaban diferencias significativas con el grupo basal se realizaron pruebas post hoc mediante la prueba de comparación de Dunnett ($p < 0,05$).

Resultados

El análisis estadístico de comparación de medias encontró diferencias significativas en el recuento de complejos trombina-antitrombina (prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis ($p=0,000$)). Una prueba de comparación post hoc con control de Dunnett mostró un aumento en el recuento con diferente significación estadística en la trombogenicidad entre los grupos. Todos los grupos mostraron un aumento en el recuento de complejos trombina-antitrombina. Siete grupos de muestras mostraron un aumento significativo de la trombogenicidad con significancia variable ($p=0,000-0,048$) y tres grupos mostraron un aumento no significativo ($p=0,052-0,999$).

Los grupos 10 ($p=0,996$) y 11 ($p=0,999$) son los que presentaron una menor trombogenicidad mostrando el menor aumento en el recuento de complejos TAT con valores $46,82\pm 36,92$ $\mu\text{g/L}$ y $42,26\pm 20,36$ $\mu\text{g/L}$ respectivamente.

No hubo diferencias significativas entre los grupos en el recuento de hematíes ($p=0,986$), leucocitos ($p=0,991$) ni en el de plaquetas ($p=0,718$).

No hubo diferencias significativas entre el grupo basal y el grupo control en el recuento de complejos trombina-antitrombina, plaquetas, hematíes ni leucocitos tras la incubación sanguínea *in vitro* en el modelo *Chandler loop*.

Conclusiones

- El estudio de la trombogenicidad mediante el análisis de los complejos TAT ha mostrado combinaciones de modificaciones químicas de la superficie en stents de nitinol menos trombogénicas que otras.
- La combinación de cavitación (US) con TICKOPUR TR 13 al 1% (SL2) posterior pasivación con ácido nítrico (HNO_3) o con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y almacenaje durante 3 semanas en Falcon es la menos trombogénica de las combinaciones estudiadas.
- El análisis en el recuento de las plaquetas como indicador de trombogenicidad no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, el grupo control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes combinaciones de modificaciones químicas de la superficie.
- El análisis en el recuento de los hematíes como indicador de hemólisis no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, el

grupo control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes combinaciones de modificaciones químicas de la superficie.

- El análisis en el recuento de los leucocitos como indicador de una reacción inflamatoria no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, el grupo control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes combinaciones de modificaciones químicas de la superficie.
- El modelo *Chandler loop* válido permite realizar pruebas de hemocompatibilidad y trombogenicidad *in vitro*.

SUMMARY

Introduction

The use of intraluminal stents is now a global technique. A variety of metals, alloys, and designs are employed in the fabrication of these devices. Anti-aggregation treatments (either single or dual therapy) have been demonstrated to improve vascular patency, which is limited by the occurrence of stent thrombosis and in-stent restenosis of variable aetiology. Surface modifications, heat treatments and coatings alter the thrombogenic potential of the stent by modifying the biological response of blood in contact with the stent.

Nitinol exhibits mechanical properties that render it particularly well-suited for utilisation as a stent. Regardless of their design, stents can undergo various surface modifications to improve their thrombogenicity. However, due to the secrecy surrounding the manufacturing of stents, there is a paucity of published work examining the influence of surface modifications on thrombogenicity, and no standardised protocols exist. The use of an *in vitro* Chandler loop model allows for the study of how thrombogenicity is altered after surface modifications by analysing different blood parameters.

Objectives

The principal objective of the present study was to investigate the impact of surface chemical modifications on the thrombogenic potential of nitinol stents. This was achieved by quantifying thrombin-antithrombin complexes (TAT) as a measure of thrombogenicity.

The secondary objectives were as follows:

- To analyse differences in thrombogenic potential by platelet count between surface chemical modifications on nitinol stents.
- To analyse differences in haemolysis by red blood cell count between surface chemical modifications on nitinol stents.
- To analyse differences in inflammatory reaction by leukocyte count between surface chemical modifications on nitinol stents.
- To validate the Chandler loop system as an *in vitro* method for testing haemocompatibility and thrombogenicity in studies with human blood samples.

Methods

An analytical observational study was conducted in which 83 nitinol stents were subjected to a cleaning process in an ultrasonic bath with different cleaning solutions (cavitation). This was followed by different combinations of chemical surface modifications (passivation with nitric acid (HNO₃), passivation with hydrogen peroxide (H₂O₂), autoclaving, and boiling in Ampuwa), which were divided into 10 groups. Following the removal of surface contamination, some stents were stored in centrifuge tubes for a period of three weeks. Blood samples were drawn from 124 recruited healthy volunteers, meeting the following exclusion criteria:

- Under the age of 18
- Smokers
- Consumption of medications in the last two weeks prior to blood collection, especially those that may affect haemostasis, such as acetylsalicylic acid, oral contraceptives, non-steroidal anti-inflammatory drugs or similar.

In an *in vitro* model that reproduces human body conditions (Chandler loop), blood incubation was performed for 60 minutes during which blood was in contact with the stents. Subsequently, measurements were performed on the blood samples in contact with the stents, as well as on a baseline and a control group. Thrombin-antithrombin complexes were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), while different haemogram parameters (red blood cells, leucocytes, platelets) were assessed by flow cytometry.

A statistical analysis was conducted to determine whether there were significant differences in the enumeration of the aforementioned variables between the control group and the experimental groups ($p < 0.05$). In order to ascertain which groups of tests exhibited significant differences from the baseline group, post hoc tests were conducted using the Dunnett comparison test ($p < 0.05$).

Results

The statistical analysis of the mean differences revealed significant differences in the count of thrombin-antithrombin complexes (non-parametric Kruskal-Wallis test, $p = 0.000$). A post hoc comparison test with Dunnett control revealed a statistically significant increase in thrombogenicity between the groups. All groups exhibited an

increase in the count of thrombin-antithrombin complexes. Seven groups of samples demonstrated a significant increase in thrombogenicity, with varying degrees of significance ($p=0.000-0.048$), while three groups exhibited a non-significant increase ($p=0.052-0.999$).

Groups 10 ($p=0.996$) and 11 ($p=0.999$) demonstrated the lowest thrombogenicity, exhibiting the least increase in TAT complex count, with values of 46.82 ± 36.92 $\mu\text{g/L}$ and 42.26 ± 20.36 $\mu\text{g/L}$, respectively.

There were no significant differences between the groups in the counts of red blood cells ($p=0.986$), leukocytes ($p=0.991$) or platelets ($p=0.718$).

There were no significant differences between the baseline and control groups in the counts of thrombin-antithrombin complexes, red blood cells, leukocytes, and platelets following *in vitro* blood incubation in the Chandler loop model.

Conclusions

- The analysis of thrombogenicity through the examination of TAT complexes has demonstrated that specific combinations of surface chemical modifications on nitinol stents exhibit reduced thrombogenicity compared to other modifications.
- The combination of cavitation (US) with 1% TICKOPUR TR 13 (SL2) after passivation with nitric acid (HNO_3) or hydrogen peroxide (H_2O_2) and storage for 3 weeks in Falcon was found to be the least thrombogenic of the combinations studied.
- The analysis of platelet counts as an indicator of thrombogenicity revealed no statistically significant decrease between the baseline, control, and nitinol stent groups subjected to different combinations of chemical surface modifications.
- The analysis of red blood cell counts as an indicator of haemolysis revealed no statistically significant decrease between the baseline, control and nitinol stent groups subjected to different combinations of chemical surface modifications.
- The analysis of the leukocyte counts as an indicator of an inflammatory reaction revealed no statistically significant decrease between the baseline, control, and nitinol stent groups subjected to different combinations of chemical surface modifications.

- The validated Chandler loop model permits the in vitro assessment of haemocompatibility and thrombogenicity.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Stents

El 19 de septiembre de 1977, Andreas Grüntzig realizó la primera intervención percutánea en un hombre despierto en la ciudad de Zúrich, iniciando el desarrollo de la cardiología intervencionista (34). Sin embargo, la primera implantación de un stent coronario no se llevó a cabo hasta una década más tarde (91). Hoy día, la cardiología intervencionista supone un avance terapéutico indiscutible en el tratamiento de la enfermedad coronaria. Estudios clínicos demuestran la seguridad y la eficacia del tratamiento de las oclusiones coronarias agudas o inminentes, la reducción de las tasas de reestenosis y la mejoría de la permeabilidad vascular tras la utilización de estos (90). Para reducir la incidencia de reestenosis los avances tecnológicos se focalizan en: el desarrollo de diferentes tipos de stents (materiales y formas) y las modificaciones de la superficie a las que son sometidos.

1.1.1. Tipos de stents

Desde el punto de vista del mecanismo de implantación, los stents se dividen en (43, 100):

- Stents expandibles con balón. Estos stents se unen a los catéteres que llevan un balón hinchable en su extremo que, al ser inflado, expande el stent en el lugar deseado para su colocación. Los stents expandibles con balón deben tener la capacidad de ser plásticamente deformables y de sostener el tamaño requerido.
- Stents autoexpandibles. Estos stents deben tener suficiente elasticidad para que puedan comprimirse para su implantación y luego desplegarse en lugar deseado sin la utilización de un balón.

Los stents coronarios desarrollados también pueden dividirse en cuatro categorías ateniendo a algunas de sus características (59):

- Stents metálicos sin recubrimiento o *bare metal stents* (BMS).
- Stents liberadores de fármacos o *drug eluting stents* (DES).
- Stents metálicos recubiertos (por ejemplo, con heparina, polímeros o similares).
- Stents biodegradables.

1.1.2. Propiedades del stent ideal

Mani et al. (59) evaluaron numerosos reportes que describen las propiedades de un stent ideal. Idealmente un stent debería tener:

- Un perfil bajo y poder ser montado en un catéter con balón con alambre guía.
- Buena expansibilidad. Una vez que el stent ha alcanzado el área objetivo del tratamiento y el balón se ha expandido, el stent debe tener la suficiente capacidad de expansión para apoyarse contra la pared del vaso.
- Suficiente resistencia radial en la dirección circunferencial y una buena fuerza de recuperación. Una vez implantado, el stent debería ser capaz de superar y no ceder las fuerzas constrictoras de la pared arterial aterosclerótica.
- Suficiente flexibilidad. Debe ser lo suficientemente flexible como para maniobrar incluso a través de las arterias arterioscleróticas más pequeñas.
- Compatibilidad adecuada con radiopacidad / resonancia magnética nuclear (RMN). Esto puede ayudar al clínico a evaluar la colocación del stent *in vivo*.
- Propiedades antitrombóticas. El material debe ser compatible con la sangre humana y no debe promover la adhesión plaquetaria y el depósito de proteínas.
- Capacidad de liberación de medicamentos. Este es un requisito previo importante para minimizar la tasa de reestenosis.

De manera global, una revisión de la literatura (59) indica que los diversos materiales utilizados en la producción de stents deben tener propiedades mecánicas adecuadas, propiedades superficiales adecuadas, excelente tolerancia a la sangre, buena biocompatibilidad y capacidad de liberación de fármacos. Cada material tiene sus propias ventajas y desventajas. Sin embargo, ningún material cumple con todos los requisitos requeridos. El éxito del tratamiento y su durabilidad a lo largo del tiempo radica en la selección de una combinación óptima de materiales y propiedades en las aplicaciones del stent.

La **Tabla 1** resume las propiedades mecánicas de diferentes metales utilizados en la fabricación de stents (59). Según su aplicación, hay determinados materiales que tienen propiedades o características específicas que los hacen ideales en determinadas aplicaciones (**Tabla 2**) (59).

Tabla 1. Propiedades mecánicas de los metales usados en la fabricación de stents (según Mani et al. 2007) (59)

Metal	Módulo elástico (GPa)	Límite elástico (MPa)	Resistencia a la tracción (MPa)	Densidad (g/cm ³)
Acero inoxidable 316 (ASTM F138/F139; refusionado)	190	331	586	7,9
Tantalio (refusionado)	185	138	207	16,6
Titanio-CP (ASTM F67; 30% trabajado en frío)	110	485	760	4,5
Nitinol	83 (fase austenita) 28-41 (fase martensítica)	195-690 (fase austenita) 70-140 (fase martensítica)	895	6,7
Aleación de cromo-cobalto (ASTM F90)	210	448-648	951-1220	9,2
Hierro puro	211,4	120-150	180-210	7,87
Aleación de magnesio (WE43)	44	162	250	1,84

ASTM: *American Society for Testing and Material*; Gpa: gigapascal; g/cm³: gramos/centímetro cúbico; Mpa: megapascal; titanio-CP: titanio comercialmente puro.

Tabla 2. Materiales con propiedades ideales para aplicaciones de stent coronario (según Mani et al. 2007) (59)

Propiedades	Material	Justificación
Módulo de elongación	Acero inoxidable 316L	Valor óptimo para stent expandible con balón
Resistencia a la tracción	Co-Cr	Valor más alto
Límite de estiramiento	Co-Cr	Mucho menos en comparación con su propia resistencia a la tracción
Energía de la superficie	PTFE	Valor más bajo
Biocompatibilidad	Ti	Literatura extensa. Presencia de una capa de óxido estable
Potencial de la superficie	Ta	Estabilidad de la capa de óxido superficial
Estructura de la superficie	Electropulido	La mejor tecnología de pulido de última generación hasta la fecha
Estabilidad de la capa de óxido superficial	Ta/Ti	Excelente estabilidad entre los materiales del implante
Terapéutica	Paclitaxel	Hidrofobia
Radiopacidad	Oro	Alta densidad
Compatibilidad con RMN	Ta/Ti/Nitinol	Ausencia de contenido en hierro
Tipo preferido para la carga de medicamentos	A base de polímeros	La cantidad de medicamento se puede aumentar a la cantidad necesaria aumentando el espesor del recubrimiento
Tipo preferido la elución de fármacos (liberación de medicamentos)	Biodegradable	El material polimérico se degrada una vez que se completa el proceso
Categoría preferida de polímeros	Biopolímero	Reacciones inflamatorias e hipertensivas mínimas

Co-Cr: cromo-cobalto; PTFE: politetrafluoroetileno; Ta: tántalo; Ti: titanio

1.2. Limitaciones en la implantación de un stent

La limitación principal de un stents tras su implantación es su oclusión o estenosis, impidiendo el paso de sangre a través. Puede presentarse como una trombosis del stent (TS) o una reestenosis intra-stent (RIS) (13, 30, 48, 90, 108). A partir de registros clínicos y estudios aleatorizados con criterios de inclusión amplios el trabajo Byrne et al. (80) describe tasas de TS <1% después de 1 año y posterior del 0,2 al 0,4% anual; las tasas de RIS clínica son del 5%.

La combinación de diferentes materiales y recubrimientos en la fabricación de stents y el uso de tratamientos antiagregantes simples o dobles han tenido como consecuencia una disminución de las tasas de RIS. El uso de BMS, DES de primera y nueva generación presentan frecuencias variables del 16-44%, 3-20% y 5-10% de RIS respectivamente (30, 48, 108). Los estudios de vigilancia angiográfica en grandes cohortes muestran tasas de RIS de alrededor del 10% con la nueva generación de DES (30).

1.2.1. Trombosis del stent

Sheth et al. mostraron (90) que el síndrome se manifiesta típicamente por una isquemia coronaria aguda que se presenta entre 1 y 12 días (5 ± 3 días) después de la implantación del stent y puede observarse con todos los diseños de stents probados hasta ahora. Entre el 3% y el 5% de los casos desarrollaron una trombosis subaguda después de la implantación electiva de un stent en una lesión coronaria nativa ideal. En contraste, se observaron algunos casos en 1996 con tasas de TS del 7% al 16%. Serruys et al. (83) describieron en su estudio en 2015 que cerca del 25% de las estenosis de un stent ocurren tras la implantación dentro de los primeros 14 días. En el año 2006, un grupo de expertos conocido como *Academic Research Consortium* consensuó una definición universal (22) que estandariza los informes sobre ensayos clínicos. Esta definición clasifica la detección de una TS según criterios diagnósticos y según el tiempo después de la implantación inicial del stent (51, 110).

Clasificación de la TS según criterios diagnósticos:

- TS definitiva: presencia de un síndrome coronario agudo con evidencia angiográfica o trombo u oclusión encontrados en la autopsia.
- Probable TS: muerte inexplicable dentro de los 30 días posteriores al implante o infarto agudo de miocardio que afecta el área del vaso objetivo sin confirmación angiográfica.
- Posible TS: todas las muertes inexplicables que ocurren al menos 30 días después del procedimiento de revascularización.

Clasificación de la TS según el tiempo tras la implantación del stent:

- TS aguda: ocurre entre 0 y 24 horas después de la intervención coronaria percutánea (ICP) índice.
- TS subaguda: ocurre entre 24 horas y 30 días después de la ICP índice.
- TS tardía: ocurre entre 31 y 360 días después de la ICP índice.
- TS muy tardía: ocurre después de 360 días después de la ICP índice.

En la práctica, puede ser útil dicotomizar los posibles eventos en dos categorías principales basadas en diferentes fisiopatologías y factores de riesgo (51, 110):

- TS temprana: se define como la trombosis que ocurre dentro de los primeros 30 días. Ésta es la más frecuente y representa entre 50 y el 70% de todos los casos del marco de tiempo total de referencia.
- TS tardía: es la trombosis que ocurre después de los 30 días.

Factores de riesgo de trombosis de un stent: se han descrito muchos factores de riesgo diferentes que pueden conducir a la trombosis del stent (13). Estos se clasifican en factores relacionados con el paciente, con el stent y con el procedimiento:

- Factores relacionados con el paciente:
 - Diabetes mellitus.
 - Fracción de eyección ventricular izquierda (FEVI) deprimida.
 - Suspensión prematura del tratamiento antiagregante plaquetario.
 - Neoplasia maligna comórbida.
 - Rasgos genéticos.

- Alta reactividad plaquetaria.
- Factores relacionados con el diseño del stent:
 - DES de primera generación (frente a BMS y DES de nueva generación).
- Factores relacionados con la tecnología:
 - ICP primaria.
 - Morfología compleja de la lesión.
 - Subdimensionamiento del stent.
 - Disección o estenosis residual.
 - Flujo TIMI bajo.

Hace unos 20 años, se describió en la literatura (32) que el despliegue óptimo del stent junto con la utilización de un mejor tratamiento antitrombótico y anticoagulante hacían del implante de stent coronario el procedimiento de elección para reducir el riesgo de trombosis aguda y reestenosis crónica. Entre otras cosas, el desarrollo de los tratamientos duales con inhibidores de la agregación plaquetaria (por ejemplo, AAS y un inhibidor del receptor de la adenosina difosfato (ADP)) podría reducir la incidencia de complicaciones hemorrágicas y TS en la implantación de stents en comparación con el tratamiento antitrombótico oral clásico (56, 82). Con respecto a la incidencia de TS, los nuevos grandes registros muestran que la tasa de TS temprana <1% ha disminuido con el tratamiento antitrombótico contemporáneo y la llegada de las nuevas generaciones de DES (73, 96, 99). En este mismo sentido, Byrne et al. (14) realizaron recientemente una revisión sistemática en 2015 de ensayos aleatorizados con DES observando que la incidencia de TS definida se había reducido al 0,61 % a los 9-12 meses. Siguiendo la línea descrita, las tasas de TS precoz y tardía a los 3 años después de la colocación del stent se han reducido a la mitad en los últimos años, de cerca del 3,0 % al 1,5 % (13, 73, 99).

1.2.1.1. Trombosis del stent precoz

Con respecto a la TS precoz, un estudio holandés (110) encontró que los factores de riesgo durante el procedimiento son los más importantes: un insuficiente tamaño del stent, la presencia de disección residual, un flujo TIMI bajo y una enfermedad residual proximal o distal a la lesión del stent son predictores importantes de una

TS precoz. En esta misma línea, un estudio francés (20) mostró que las lesiones con morfologías complejas y la ICP índice en el contexto de un infarto agudo de miocardio son fuertes predictores de una TS posterior. Iakovou et al. (42) hallaron que factores de riesgo adicionales específicos del paciente, como la alteración de la FEVI y la alteración de la respuesta al tratamiento con antagonistas de ADP, también representan un aumento importante del riesgo de TS precoz. De hecho, la interrupción prematura del tratamiento antiagregante dentro de los primeros 30 días después de la colocación del stent es posiblemente el predictor más importante de una TS precoz. En cuanto a los factores relacionados con el diseño del stent, Kastrati et al. (47) en su análisis de grandes conjuntos de datos de diferentes estudios, encontraron que las tasas de TS precoces comparables son ligeramente más altas en caso de utilización de BMS en comparación con la utilización de DES. El trabajo de Kolandaivelu et al. (53) sugiere que el riesgo de trombosis aguda posiblemente podría reducirse mediante recubrimientos poliméricos al mejorar la interacción entre el stent y la sangre. Además, un estudio aleatorizado de Sabate et al. (79) encontraron alguna evidencia que sugería una TS inicial más baja para los stents recubiertos con polímeros que para los BMS en la colocación de stents en infarto agudo de miocardio.

1.2.1.2. Trombosis del stent tardía

En cuanto a los predictores de una TS tardía, dentro de los factores relacionados con el paciente, una FEVI deprimida y la presencia de diabetes mellitus se asocian con un mayor riesgo (110). Al igual que en la patogenia de la TS precoz, una alteración en la respuesta al tratamiento antiagregante con antagonistas de la ADP también aumenta el riesgo de TS tardía (61). De manera semejante, los factores relacionados con el procedimiento pueden desempeñar igualmente un papel importante en la patogenia de la TS tardía, donde persisten problemas mecánicos significativos (por ejemplo, tamaño insuficiente o expansión deficiente del stent) después del momento de la finalización del tratamiento con doble antiagregación plaquetaria (DAPT) (110). En pacientes con una TS tardía se ha observado en pruebas de imagen intravasculares un malposicionamiento o un despliegue incompleto del stent (43). Teniendo en cuenta los factores relacionados con el tipo

de stent, la primera generación de DES fue cuestionada en 2006 tras la exposición de algunas presentaciones en la reunión anual de la Sociedad Europea de Cardiología que indicaban tasas más altas de TS y, por lo tanto, un posible aumento del riesgo de muerte de etiología cardíaca (82). Aunque existe una etiología multifactorial, destaca el hecho de que además existe una respuesta inflamatoria contra los recubrimientos poliméricos duraderos utilizados en la primera generación de DES (9, 57). Las nuevas generaciones de DES mostraron posibles soluciones para reducir este problema, entre otras, incorporando stents más delgados (que reducen la lesión vascular aguda) y recubrimientos poliméricos con mayor biocompatibilidad (73, 99).

1.2.2. Reestenosis intra-stent

Una segunda limitación importante descrita por Kastrati et al. (45) en 1993, es el fracaso tardío del stent por una RIS. Aunque la resistencia a las fuerzas mecánicas agudas y tardías tras la colocación del stent es un elemento importante, cabe señalar Farb et al. (29) observaron que la colocación de stents conduce a una lesión vascular aguda aumentada en el momento de la ICP y posteriormente a grados variables de hiperplasia neointimal como parte del proceso de cicatrización. Descubrieron que la colocación de stents conlleva un mayor grado de lesión vascular en comparación con la angioplastia con balón. En los segmentos vasculares intervenidos aumentó la hiperplasia neointimal, siendo ésta la principal causa de reestenosis después de la implantación de BMS. En un estudio publicado que investiga el mecanismo molecular subyacente de la reestenosis después de la ICP, se demostró que la RIS se caracteriza por un proceso fisiopatológico diferente y no simplemente por una forma acelerada de aterosclerosis posterior a la intervención (21). Se ha descrito que, mediante la ICP, la respuesta inflamatoria a la lesión de la pared del vaso juega un papel importante en el desarrollo de la reestenosis, lo que conlleva a la hiperplasia de las células musculares lisas y al crecimiento de fibroblastos. Byrne et al. clasificaron los factores mecánicos que podrían contribuir a la reestenosis después de una intervención vascular en cinco categorías (12):

- Prolapso agudo o subagudo de la placa alterada.

- Recuperación elástica de la pared del vaso.
- Transformación constrictiva.
- Hiperplasia neointimal (debido al depósito de matriz extracelular e hiperplasia de células musculares lisas).
- Aterosclerosis intra-stent de novo (neoaterosclerosis).

Este estudio mencionado anteriormente definió una reestenosis desde el punto de vista angiográfico como una reestenosis > 50 % por un lado y > 75 % por otro lado de la sección transversal de la superficie del vaso de referencia, que podrían evaluarse mediante diferentes tipos de técnicas de imagen intravasculares tridimensionales. Desde el punto de vista clínico, el término reestenosis se utiliza en ocasiones cuando aparecen síntomas o signos de isquemia y es necesario tratar la estenosis tratada previamente. Las tasas de reestenosis clínica suelen ser significativamente más bajas que las tasas de reestenosis proporciones con ayuda de técnicas de imagen porque no todas las reestenosis causan síntomas o isquemia. Desde el punto de vista patológico de la reestenosis, algunos estudios han demostrado diferencias significativas entre la reestenosis tras la implantación de BMS y DES (11, 62). Las diferentes características de la reestenosis en la implantación de BMS y DES se resumen en la **Tabla 3** (13).

Tabla 3. Comparación de las propiedades de la reestenosis en stents metálicos no recubiertos y stents liberadores de fármacos (del inglés según Byrne et al. 2015) (13).

Característica	Reestenosis de BMS	Reestenosis de DES
<i>Características de imagen</i>		
Apariencia angiográfica	Patrón difuso más común	Patrón focal más común
Evolución temporal de la pérdida luminal tardía	Pérdida tardía máxima a los 6-8 meses	Pérdida tardía continua hasta 5 años
Propiedades de los tejidos en la tomografía de coherencia óptica	Homogénea, típica banda de señal alta	Típica estructura en capas o heterogénea
<i>Características histopatológicas</i>		
Celularidad de la musculatura lisa	Rica	Hipocelular
Contenido de proteoglicanos	Moderado	Alto
Fibrina peri-strut e inflamación	Ocasional	Frecuente
Endotelización completa	3-6 meses	Hasta 48 meses
Presencia de trombo	Ocasional	Ocasional
Neoaterosclerosis	Relativamente infrecuente, tardío después de la colocación de stent	Relativamente frecuente, curso acelerado

BMS: stent de metal no recubierto; DES: stent liberador de fármacos

Entre otros, el estudio de Gonzalo et al. (33) mostró que la principal diferencia entre los dos tipos de stent fue que la reestenosis después de BMS se caracterizaba típicamente por una hiperplasia neointimal con un nivel moderado de proteoglicanos y una proporción alta de células musculares lisas vasculares. Por el contrario, la reestenosis después de DES típicamente presenta una hiperplasia neointimal rica en proteoglicanos con relativamente pocas células musculares lisas. En el estudio de Cassese et al. (17), un control angiográfico sistemático en 10.000 pacientes tratados con stent coronario, mostró tasas angiográficas de reestenosis cercanas al 30% tras el despliegue de BMS. Sin embargo, Raungaard et al. (75) encontraron una reducción significativa de las tasas angiográficas de reestenosis con la introducción de DES a través de la inhibición de la migración de células musculares lisas vasculares; contenían tasas en torno al 15% para DES de primera generación y del 12% para la generación más nueva. Por otro lado, las tasas de reestenosis clínicamente relevantes fueron menores del 5% sin control angiográfico después de un año. Tan pronto se coloca un BMS, la formación neointimal alcanza su punto máximo a los 6 meses, como lo demuestran los estudios angiográficos de vigilancia. Luego permanecen estables o disminuyen un poco a mediano plazo (45, 49) debido al sellado de la pared del vaso, la contracción neointimal y la remodelación positiva de la pared vascular, aunque los estudios de seguimiento a largo plazo de los stents coronarios a los 4 años han mostrado un estrechamiento del lumen vascular (50, 113). En la implantación de DES, el curso temporal de la reestenosis es variable. Es característica una erosión continua del calibre luminal entre los 6 y 8 meses hasta los 2 años después de la colocación del stent (22). En los pacientes tratados con la primera generación de DES que se sometieron a un seguimiento angiográfico a los 6-8 meses y a los 5 años, hubo una pérdida incrementada del calibre luminal (49). El seguimiento de pacientes con DES que experimentaron una oclusión arterial progresiva más allá de los 6 a 8 meses respalda la hipótesis de la existencia de un proceso de curación del DES arterial retrasado. Autopsias y estudios preclínicos sugieren que esto puede dictar el curso temporal de la RIS después de DES en comparación con BMS. Al respecto, pueden atribuirse algunas de estas erosiones tardías del calibre luminal a una mayor incidencia de desarrollo neoaterosclerótico de RIS tras la implantación de DES (65).

Según Cassese et al. (18) la aparición de RIS tiene un impacto importante en el pronóstico a largo plazo tras de la ICP y la identificación de pacientes con riesgo aumentado es un reto. Los factores de riesgo de RIS también podrían clasificarse como factores relacionados con el propio paciente, con el tipo de stent utilizado y con el procedimiento en sí (17, 74):

- Factores relacionados con el paciente:
 - Diabetes mellitus
 - Insuficiencia renal crónica
- Factores relacionados con el stent:
 - BMS (en comparación con DES)
 - Primera generación de DES (en comparación con la segunda generación de DES)
 - Struts del stent gruesos (en comparación con struts del stent finos)
- Factores relacionados con la técnica:
 - Pequeñas estenosis vasculares residuales tras la colocación del stent
 - Mayor longitud stentada
 - Lesiones con morfologías complejas
 - Bifurcación de la lesión

Según Kastrati et al. (46) predictores de reestenosis tras la implantación de DES son el tamaño del vaso, el diámetro final de la estenosis y el tipo de stent utilizado. Pache et al. (66) describieron en su estudio que el uso de stents más finos redujo la extensión de la lesión después de la implantación y dio lugar a un menor riesgo de reestenosis en comparación con los stents más gruesos. Dibra et al. (26) pudieron demostrar en su estudio que existe una correlación entre el aumento en los niveles de proteína C reactiva tras la intervención y la reestenosis angiográfica.

Como alternativa, existen stents biodegradables que resuelven el problema de la RIS a largo plazo debido a su capacidad para liberar una cantidad mayor de fármacos que los stents metálicos recubiertos. El stent biodegradable se degradaría a subproductos no tóxicos que desaparecerían con el tiempo, lo que permitiría una nueva revascularización percutánea o un tratamiento quirúrgico posterior. El uso de estos stents permitiría también el tratamiento de lesiones tributarias y ostiales de

las arterias coronarias. Sin embargo, su uso está limitado debido a que no tienen una fuerza de retroceso contra la pared arterial aterosclerótica tan alta como los stents metálicos, lo que favorece una reestenosis temprana, provoca una inflamación local importante y puede incluso conducir a una reestenosis debido a una absorción relativamente lenta. También estos stents son radiotransparentes, lo que dificulta su colocación precisa al carecer de visualización fluoroscópica (59, 111).

Otra alternativa son los stents capturadores de células progenitoras de endotelio (CPE), que consisten en stents de acero inoxidable recubiertos con anticuerpos humanos anti-CD34, que favorecen el asentamiento de las CPE circulantes en el stent. Las CPE es un subconjunto de células madre circulantes derivadas de la médula ósea que pueden diferenciarse en células endoteliales funcionales maduras, lo que contribuye a la reendotelización acelerada y limita el desarrollo de hiperplasia neointimal en el lugar del stent, lo que teóricamente conduce a una disminución de la reestenosis y de la trombosis tardía del stent. Dado que hasta la fecha no se han realizado estudios aleatorizados a gran escala, no se puede evaluar de forma concluyente la eficacia de los stents CPE en comparación con BMS y DES (84).

1.3. Nitinol

Nitinol es el nombre de una aleación metálica (90) desarrollada por la Marina de los EE. UU. en la década de 1960 (13). El nombre proviene de la abreviatura de *Nickel-Titanium-Naval Ordnance Laboratory* (80). Como sugiere su nombre, es una aleación de níquel y titanio que consta de un 49,5-57,5% de Ni, siendo el resto titanio (59). Los dos elementos están presentes en porcentajes atómicos aproximadamente iguales. El nitinol pertenece a la familia de aleaciones metálicas de materiales con memoria de forma y propiedades superelásticas (80). Una aleación metálica con memoria de forma "recuerda" una forma previamente memorizada y puede asumirla alternativamente calentándola y enfriándola. Esta aleación permite la colocación uniforme de un stent con poca o baja presión (19, 28) pudiendo usarse, por lo tanto, para la fabricación de stents autoexpandibles. En su fabricación, en una primera fase llamada martensita o fase a baja temperatura,

se preforma a temperatura ambiente y será posteriormente acoplado al sistema de colocación del stent (23, 95, 97); en una segunda fase llamada austenita o de alta temperatura que tiene lugar durante la implantación, el stent recupera la forma “almacenada” originalmente tras reaccionar al aumento de la temperatura corporal (23, 97).

Cuando se utilizan stents expandibles con balón, se requiere de la realización de una dilatación de este a alta presión para conseguir deformar plásticamente la estructura en el vaso aterosclerótico estrechado. Esto provoca una lesión vascular y denudación endotelial, que se traduce en un aumento de la hiperplasia neointimal dentro del segmento stentado (32). Así mismo, se produce un acortamiento longitudinal y una pérdida de elasticidad durante la expansión del stent. Los stents expandibles con balón pueden colapsarse en respuesta a las fuerzas de compresión externas, la flexión, las torsiones y la fatiga axial tras la movilización. Por el contrario, las aleaciones con memoria de forma funcionan mejor a baja presión, produciéndose un menor acortamiento longitudinal (16, 76, 90), buena flexibilidad, rigidez a la compresión del anillo más eficiente y buena resistencia radial tan importante para una implantación de stent exitosa (78, 103). La capacidad de recuperación de los stents de nitinol produce una ventaja en su utilización como implante en las arterias carótida y femoral, ya que éstas son superficiales y están expuestas a fuerzas de presión externas (27).

1.4. Trombogenicidad

La trombogenicidad es la tendencia de una sustancia o material, especialmente un cuerpo extraño, como por ejemplo un dispositivo médico, a producir trombos en contacto con la sangre. Los trombos pueden ser los responsables entre otros de un accidente cerebrovascular, un infarto de miocardio o una embolia pulmonar.

Es un proceso complejo en el que influyen varios factores como las propiedades del material, las condiciones del flujo sanguíneo y las enfermedades subyacentes del paciente. Los materiales altamente trombogénicos pueden activar las plaquetas y la cascada de la coagulación y provocar la formación de un trombo.

En condiciones normales, se forman constantemente pequeñas cantidades de

fibrina dentro del tracto vascular intacto, que son simultáneamente disueltas nuevamente por el sistema fibrinolítico. Un sistema hemostático intacto (vasos sanguíneos, plaquetas y factores plasmáticos) no solo protege al organismo del sangrado sino también de la trombosis, estando ambos sistemas normalmente en equilibrio (39). Las células endoteliales tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la integridad del sistema vascular (5).

Las moléculas no trombogénicas de las células endoteliales contribuyen a mantener la permeabilidad de la superficie arterial a través de diferentes mecanismos: prostaciclina (PGI-2) (potente inhibidor de la agregación plaquetaria y vasodilatador), otros potentes vasodilatadores (bradicinina, óxido nítrico „tiolado“ y factor relajante derivado del endotelio (EDRF)), anti-Factor VIII (que afecta la coagulación intrínseca) y factores implicados en la fibrinólisis como el activador del plasminógeno específico de tejido (t-PA) y la uroquinasa. Un complemento importante del endotelio no trombogénico es una fina capa de heparán sulfato sobre la superficie luminal (5, 39).

Otras moléculas endoteliales participan en funciones hemostáticas de diferentes maneras: el factor von Willebrand facilita la adhesión plaquetaria en las etapas iniciales de la trombogénesis, el factor tisular para la iniciación de la cascada de coagulación extrínseca, el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (IAP-1) y el metabolito del ácido araquidónico tromboxano-A₂ (TXA₂). Muchas de las moléculas trombogénicas también causan vasoconstricción: TXA₂, angiotensina II, endotelina-1 (ET-1) y factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (1, 5, 6, 72, 81, 98).

La formación de trombos durante la implantación del stent es, por lo tanto, un complejo proceso en el que el stent lesiona la pared del vaso con la exposición de colágeno subendotelial. Posteriormente, la trombogénesis se inicia mediante la adsorción de proteínas a los stents y la adhesión plaquetaria a la pared arterial endotelial desnuda, lo que lleva a la liberación de ADP y TXA₂, que inducen la activación y la agregación plaquetarias (39). Los trombos ricos en plaquetas liberan sustancias estimulantes de la proliferación, como PDGF y trombina, que a su vez conducen a una respuesta hiperplásica de la neointima mejorada (2).

El crecimiento del trombo ocurre a través de un aumento en la densidad de la red de fibrina que contiene hematíes, plaquetas y algunos leucocitos (5). Esto induce, en un proceso crónico, a la proliferación de células musculares lisas (81). En la implantación de stents, la formación de trombos también puede comenzar con un proceso de transferencia de electrones desde la fibrina en contacto con el metal ocupando estados electrónicos con la misma energía (81). Habitualmente, las distintas superficies en contacto con la sangre desencadenan estos procesos en función de su hemocompatibilidad (44).

Sheth et al. cuantificaron y compararon la trombogenicidad y la extensión del daño vascular existente entre stents de acero inoxidable y stents de nitinol en un modelo animal sin tratamiento antitrombótico (90). Mostraron que los stents de acero inoxidable contenían más trombos y estaban más frecuentemente ocluidos por trombos que los stents de nitinol. También encontraron que los stents de acero inoxidable se expandían de una manera menos uniforme y se asociaban más frecuentemente a una necrosis más extensa de las células musculares lisas mediales que los stents de nitinol debido a la penetración más profunda del strut en la pared vascular. Encontraron una fuerte correlación entre las variables de medida de la trombosis (peso y grado del trombo) y la lesión vascular determinada histológicamente (penetración del strut y necrosis medial). En comparación, los stents de nitinol se asociaron con una menor penetración significativa del strut y necrosis medial. Histológicamente se encontraron junto a los puntos de contacto en el strut del stent, una proliferación neointimal en el grupo de stents de nitinol (19).

Estas observaciones fueron correlacionadas por Thierry et al. en 2002 en su artículo (104) al comparar la trombogenicidad relativa de los stents de nitinol frente a los stents de acero inoxidable. En dos tipos de stent con idéntica geometría, el análisis con el microscopio electrónico de barrido mostró solo pequeñas cantidades de trombos blancos y/o rojos principalmente en los struts cruzados en los stents de nitinol, mientras que encontraron significativamente más trombos en el grupo de stents de acero. Demostraron que la adsorción de fibrina (fibrinógeno) y la adhesión plaquetaria fue significativamente menor en el grupo de stents de nitinol que en el grupo de stents de acero inoxidable (36 y 63 % respectivamente) y observaron una

correlación entre la adsorción de fibrina y la adhesión plaquetaria en los stents de nitinol y de acero, sugiriendo que los diferentes resultados podrían estar relacionados con el material del stent.

En base a los resultados, quedó demostrado que el nitinol era menos trombogénico que el acero inoxidable (104). Se halló que los stents de nitinol estaban recubiertos por una rica capa de óxido de titanio (principalmente TiO_2) similar a la aleación de titanio (103), conocida por su buena hemocompatibilidad (106). Se concluyó que además de las características del stent autoexpandible de nitinol se relacionaba con un menor acortamiento longitudinal reduciéndose el daño endotelial (36). En el trabajo de Thierry et al. también se encontró que el nitinol es comparable o está mejor caracterizado que el acero inoxidable en términos de biocompatibilidad y resistencia a la corrosión (104). Las reacciones posteriores a la colocación del stent incluyen la activación de la coagulación, la formación de trombos y la inflamación, que indica la necesidad de un tratamiento antiagregante con AAS, antagonistas de ADP y antagonistas de la glicoproteína IIb/IIIa para prevenir la trombosis temprana del stent. El criterio de valoración común de todas las reacciones a cuerpos extraños vasculares en contacto con la sangre humana es la formación de neointima, que se produce incluso después de la interrupción del tratamiento antiagregante (60, 94). La doble antiagregación plaquetaria proporciona un control temporal de la trombosis del stent; sin embargo, la continuación de por vida de esta terapia conduce a otras complicaciones, particularmente complicaciones hemorrágicas graves (40, 112). Los productos a base de nitinol están limitados por la aparición de trombosis y reestenosis (43).

Las diferencias en el potencial trombótico entre los distintos stents se deben a las reacciones en la interacción del metal con la sangre humana y los componentes procoagulantes vasculares (19). Las diferencias en el comportamiento de los distintos tipos de stents durante la expansión pueden explicarse por las propiedades físicas de los respectivos metales y aleaciones, así como por diferencias sutiles pero importantes en la geometría de construcción. En cuanto a las interacciones de los materiales, las propiedades de la superficie del material del stent influyen en la interacción con las proteínas sanguíneas, las plaquetas y el

material extracelular circundantes, incluida la energía de la superficie (humectabilidad), el potencial de la superficie (6, 81, 98), la estructura de la superficie (rugosidad) y la composición de la superficie (estabilidad de la capa de óxido superficial, intercambio de iones metálicos, resistencia a la corrosión y grupos funcionales (41).

Es la combinación de estos factores lo que influye en el resultado. Las propiedades superficiales de un material dependen del tratamiento al que ha sido sometida la superficie del material, que está determinado por diferentes texturas y composiciones superficiales. Esto puede dar lugar a diferentes niveles de energía de la superficie que modifican la adhesión, el crecimiento y la proliferación de las células endoteliales (59, 71, 102).

Las diferentes características de las superficies de los metales, independientemente del tipo aleación o material, como la topografía de la superficie, la química y su comportamiento ante la corrosión y la liberación de iones al torrente sanguíneo, sin olvidar la respuesta biológica a las diferentes superficies, tienen relación directa con la trombogenicidad en contacto con la sangre humana (106).

1.4.1. Energía de la superficie

Shabalovskaya et al. mostraron en su estudio de 2013 (89) que la energía de la superficie y la humectabilidad son parámetros importantes para comprender el comportamiento biológico de las superficies de biomateriales, especialmente para la adsorción de proteínas y la adhesión celular. El análisis de la energía de la superficie junto con los resultados electroquímicos y de hemocompatibilidad revelaron que el cambio del componente polar de la energía de la superficie y la trombogenicidad provienen de cambios en el aceptor de electrones de las superficies de nitinol nativo durante las modificaciones de la superficie (89). El carácter polar de las superficies de los biomateriales regula la adsorción de proteínas, la adhesión celular y la propagación. Este carácter polar modifica la absorción de proteínas plasmáticas a través de la geometría molecular y la distribución de carga (68). Finalmente, se encontró que la humectación de las superficies de nitinol nativo puede manipularse en gran medida mediante simples modificaciones de la superficie y que el componente polar de la energía de la

superficie juega un papel crucial (89). La trombogenicidad de la superficie del material aumenta con el aumento de la energía de la superficie (13, 77).

1.4.2. Potencial de la superficie

La carga eléctrica neta en la superficie de un material juega un papel clave en la trombogenicidad (25, 115). Se enfatiza la trombogenicidad porque la mayoría de los metales son elementos electropositivos, mientras que los elementos sanguíneos tienden a ser electronegativos (25); Hehrlein et al. (37) encontraron que metales menos electropositivos inducían mayor hiperplasia neointimal. Estos resultados confirmaron que la trombogenicidad y la biocompatibilidad dependen de varios factores. El potencial de superficie es solo uno de ellos (59). Shabalovskaya et al. (88) encontraron una correlación entre la adsorción de fibrinógeno y la concentración superficial de titanio. Según esto, la adsorción de fibrinógeno disminuye en proporción al aumento del potencial de superficie negativo del nitinol.

1.4.3. Estructura de la superficie

Además de la geometría y las propiedades físicas del metal, otros estudios han demostrado la importancia de la rugosidad del material en su relación con la trombogenicidad y la hiperplasia neointimal en diferentes tipos de stents (90, 104). Para minimizar la activación de una cascada de proteínas que conduce a la adsorción y desorción de una capa de proteína plasmática en un biomaterial se requieren superficies lisas (24). El control exhaustivo de la estructura de la superficie del stent es relativamente difícil debido a los cambios morfológicos que ocurren durante la expansión del stent. Palmaz et al. (67) observaron que las superficies ranuradas tenían tasas de migración endotelial más altas y una endotelización más rápida comparado con los controles y las superficies pulidas. Especialmente en lo que respecta a la liberación farmacológica, debería tenerse en cuenta la rugosidad de la superficie del stent (59). Tepe et al. (101) demostraron después de analizar superficies lisas que entraron en contacto con la sangre una trombogenicidad reducida, así como una disminución del recuento de plaquetas y un aumento de los complejos trombina-antitrombina (TAT).

1.4.4. Composición de la superficie

Otro factor que afecta la biocompatibilidad de un material es la estabilidad de la capa de óxido superficial que se produce en contacto del metal con el medio que limita la liberación de iones del material como barrera (59). En el caso del nitinol, se produce la liberación de iones de Ni (7, 38), que es tóxico (52, 88), ya que los iones metálicos liberados activan plaquetas y leucocitos (35, 107), que secundariamente da lugar a un aumento de la trombogenicidad del stent. En este sentido, la liberación de iones metálicos además tiene un efecto potencialmente tóxico a través del daño sobre las células endoteliales (59). Sin embargo, podría decirse que el nitinol es un material resistente a la corrosión (58, 79, 97). Independientemente de las propiedades del material base, se utilizan modificaciones de la superficie y revestimientos del stent (59, 88) para mejorar la resistencia a la corrosión del material y su biocompatibilidad (88).

1.5. Antitrombogenicidad en stents

Los stents han revolucionado la medicina cardiovascular. Sin embargo, los primeros stents metálicos no recubiertos (BMS) se asociaban a un riesgo significativo de trombosis. El desarrollo de stents antitrombogénicos es uno de los principales focos de investigación en cardiología intervencionista. Las investigaciones encaminadas a disminuir el riesgo de trombosis de los stents se pueden agrupar en:

- Stents liberadores de fármacos (DES): recubiertos con un polímero biodegradable que tiene la capacidad de liberar diferentes fármacos antitrombóticos (zotarolimus, everolimus y novolimus) que inhiben la agregación plaquetaria, reduciendo el riesgo de formación de trombos.
- Stents biorreabsorbibles: fabricados con materiales que proporcionan un soporte transitorio y se degradan progresivamente, disolviéndose o absorbiéndose en el cuerpo después del proceso de remodelación, eliminando la presencia a largo plazo de un cuerpo extraño en la arteria (metal sobrante del stent).
- Modificaciones de la superficie del stent: este enfoque permite mejorar la biocompatibilidad, seguridad y eficacia de los stents mejorando la respuesta biológica del stent en contacto con la sangre, haciéndolo menos trombogénico independientemente del material del que esté fabricado el stent.

1.6. Respuesta biológica de la sangre en contacto con nitinol

La interacción de los stents de nitinol con la sangre desencadena una serie de respuestas biológicas que deben ser consideradas para garantizar el éxito a largo plazo del dispositivo implantado (88). Al entrar en contacto con la superficie del stent de nitinol se produce:

- Adhesión y activación plaquetaria: las plaquetas pueden adherirse y activarse, lo que puede conducir a la formación de coágulos sanguíneos.
- Respuesta inflamatoria: se desencadena una respuesta inflamatoria local caracterizada por la liberación de citocinas y otras moléculas proinflamatorias. Esta respuesta puede ser beneficiosa para la integración del dispositivo con el tejido circundante, pero también puede contribuir a la trombosis y al crecimiento de tejido neointimal. Es un proceso complejo que involucra a diversas células y moléculas. La valoración de la respuesta inflamatoria involucra no solo la medición de leucocitos, sino que involucra otros parámetros:
 - Proteínas de fase aguda:
 - Proteína C reactiva (PCR): es una proteína que se sintetiza en el hígado en respuesta a la inflamación. Los niveles de PCR aumentan rápidamente en presencia de inflamación, por lo que es un marcador sensible pero no específico.
 - Velocidad de sedimentación globular (VSG): es una prueba que mide la velocidad a la que los glóbulos rojos se sedimentan en un tubo de ensayo. La VSG se eleva en procesos inflamatorios, pero también puede verse afectada por otras condiciones.
 - Citocinas proinflamatorias: TNF-alfa, IL-1, IL-6 son moléculas de señalización celular que desempeñan un papel importante en la respuesta inflamatoria. Sus niveles pueden medirse en sangre para evaluar la intensidad de la inflamación.
- Corrosión: presenta un grado variable de corrosión que da lugar a la liberación de iones de níquel y titanio desde la superficie del stent, tóxico y perjudicial para el paciente.
- Hemólisis: daña los glóbulos rojos, liberando hemoglobina y otros componentes intracelulares al torrente sanguíneo.

La comprensión de la respuesta biológica de la sangre en contacto con los nitinol es fundamental para el desarrollo de stents seguros y eficaces.

1.7. Modificaciones de la superficie

Se han desarrollado varias estrategias para mejorar la biocompatibilidad del nitinol y reducir la respuesta biológica adversa secundaria a su implantación. Junto a los métodos del diseño del stent (geometría, rugosidad y porosidad) que modifican sus propiedades mecánicas y la recuperación de su forma original y la selección de diferentes aleaciones de nitinol se combinan las modificaciones de la superficie (88).

Debido al secreto industrial en la fabricación de los stents de nitinol, no se publica información sobre las modificaciones de la superficie, no existiendo protocolos estándar. Numerosos trabajos están dirigidos a mejorar la resistencia a la corrosión del material y su biocompatibilidad mediante la eliminación de Ni de la superficie. Mediante modificaciones de la superficie puede mejorarse la respuesta biológica reduciendo el riesgo de trombosis, mejorando la endotelización y reduciendo la reestenosis (88).

El nitinol en contacto con la sangre reacciona formando una capa de óxido de titanio como parte de un proceso de corrosión. Además, se acumulan en su superficie oxígeno, carbono e iones de Ni en pequeñas cantidades que se liberan al torrente sanguíneo (81), que dan lugar a una toxicidad sistémica en diferentes órganos (22, 59, 67) y que afecta de diferentes maneras: cancerogénesis, reacciones alérgicas, reestenosis, inflamación y activación de plaquetas (20) y leucocitos (22).

La resistencia a la corrosión del nitinol varía dependiendo de su estado superficial con las diferentes modificaciones de la superficie (88). El residuo de iones de Ni depende de ellas (43, 81), que tienen como fin minimizar la corrosión disminuyendo tanto la reacción tisular, que favorece la adsorción de proteínas plasmáticas y la activación de las cascadas de proteinasas (104), como la degradación estructural (13). Estas modificaciones reducen la trombogenicidad y secundariamente la hiperplasia neointimal (104), que conduce a una reestenosis independientemente del material y del recubrimiento del stent y del tipo de tratamiento antiagregante (88). En el caso del nitinol se incluyen medidas para sustituir los iones de Ni concentrados en la superficie aumentando la concentración de la capa de óxido de

titanio de la superficie (58, 85).

El trabajo de Shabalovskaya et al. (88) analiza las diferentes modificaciones de la superficie que aumentan la compatibilidad de los biomateriales, que alteran la interacción entre el stent y la sangre. Son:

- Modificaciones mecánicas
- Modificaciones químicas y electroquímicas
- Tratamientos térmicos
- Modificaciones con fuentes iónicas y energéticas (corriente de haz iónica convencional y de electrones, implantación iónica por inmersión en plasma, láser)
- Otros: superficies bioactivas

En función del mecanismo de acción se dividen en tres categorías (88, 102):

- Modificaciones topográficas: tienen como objetivo obtener superficies lisas y libres de contaminación. Incluyen el pulido mecánico, el electropulido, la limpieza ultrasónica, el grabado químico y el desengrasado y el grabado con plasma a baja presión.
- Modificaciones fisicoquímicas: generando grupos funcionales adecuados y/o modulando la energía superficial. Pueden utilizarse óxidos y nitruros de metales. Alternativamente, los metales y los polímeros pueden depositarse mediante diversas técnicas fisicoquímicas y el uso del láser pulsado.
- Biofuncionalización de la superficie: aplicación de recubrimientos con biomoléculas con propiedades biológicas específicas, quedando inalteradas las propiedades mecánicas originales del material. La heparinización superficial es uno de los métodos más comunes para aumentar la histocompatibilidad y el recubrimiento que libera fármacos. El recubrimiento de las superficies metálicas reduce la energía, mejora la rugosidad y neutraliza el potencial de la superficie mejorando la bio- y hemocompatibilidad de un stent al modificar la trombosis y proliferación intimal (59).

1.7.1. Modificaciones mecánicas

Las modificaciones mecánicas de la superficie a las que se pueden someter los stents son diferentes técnicas de pulido que reducen la rugosidad de la superficie. El pulido de un stent es hoy día una técnica fundamental para reducir la

trombogenicidad de un stent (59). Incluyen el pulido mecánico, el arenado abrasivo y el granallado (88).

- El pulido mecánico es un proceso mediante el cual se consigue el grado de pulimento deseado (102) utilizando progresivamente abrasivos más finos (por ejemplo, papel de carburo de silicio de diferente granaje) (71) hasta alcanzar el nivel de pulimento deseado de una superficie. Esta técnica posibilita eliminar la capa externa de Ni de la superficie del stent y dejar una capa de óxido de titanio en la superficie de la aleación (43).
- El arenado y el granallado son procesos semejantes en los que los metales se pulen mediante la propulsión a alta presión de agua, aire o minerales duros como abrasivo en lugar de un pulido mecánico para lograr el pulimento deseado de la superficie (102).

1.7.1.1. Limpieza de los residuos

El pulido mecánico al que se someten los metales y las aleaciones da lugar a la acumulación en su superficie de diferentes cantidades de residuos de los agentes de pulido y emulsiones de aceites utilizados en el proceso que las hacen menos homogéneas (78, 88, 104). Estas superficies deben ser sometidas posteriormente a un proceso de limpieza con el fin de disminuir la trombogenicidad de los metales reduciendo la activación de la cascada de coagulación (102).

La eliminación de estos residuos se realiza mediante la utilización de ultrasonidos consiguiendo la formación constante y la implosión de pequeñas burbujas sobre la superficie mediante la aplicación de diferentes frecuencias, consiguiendo un efecto de limpieza sobre la superficie del metal o de la aleación. Este proceso recibe el nombre de cavitación. Los dispositivos de limpieza ultrasónicos son ideales para la limpieza componentes complejos, pequeños y finos como son los stents. El uso concomitante de diversas soluciones de limpieza reduce los tiempos de limpieza y mejora su resultado y además puede tener un efecto desinfectante (71), alterando la biocompatibilidad de los metales tratados mediante esta técnica. Tras el proceso de limpieza por cavitación las soluciones de limpieza se eliminan mediante enjuague del metal.

1.7.2. Modificaciones químicas

Las modificaciones químicas tienen como efecto así mismo la reducción de la liberación de iones de Ni del nitinol secundaria a la corrosión. Se incluyen: la pasivación, el electropulido, el pulido electromagnético, la ebullición en agua, los tratamientos en autoclave (tratamientos hidrotermales) e inmersión en peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (88, 89, 102, 104).

- La pasivación o grabado químico es un proceso no electrolítico mediante la inmersión de la aleación en soluciones acuosas junto con un agente oxidante (ácido nítrico (HNO₃) o ácido fluorhídrico) alterando la química superficial del nitinol reduciendo la concentración de iones metálicos, en este caso Ni, en la superficie y aumentando la capa protectora fina y homogénea de óxido de titanio (<0,1mm) sin cambiar significativamente las propiedades de la aleación (59, 88, 102).
- El electropulido (EP) en el nitinol está poco explorado, si bien en los últimos tiempos se han publicado diferentes artículos que tratan las modificaciones químicas a las que se puede someter al nitinol (88). Consiste en un proceso electrolítico (o electroquímico) semejante en el que se alteran las propiedades químicas y electrostáticas del stent modulando la interacción de las proteínas plasmáticas y los componentes celulares de la sangre con la superficie (101). El proceso se lleva a cabo sumergiendo la aleación en una disolución anódica sometida a corriente eléctrica que pasa a través de una solución electrolítica, reduciendo la rugosidad de la superficie y la trombogenicidad del material (102). Curiosamente, la utilización del EP del nitinol también puede utilizarse para causar una ligera estructuración para promover la unión celular. Las superficies sometidas a electropulido son más heterogéneas que las pulidas químicamente y que las superficies pulidas mecánicamente (88).
 - El pulido electromagnético (PEM) es una variante del EP que utiliza un campo magnético uniforme aplicado externamente. El resultado de este depende de parámetros como la duración del proceso, el nivel de voltaje, el tipo de electrolito y su temperatura. La aplicación de esta técnica muestra una adhesión plaquetaria reducida en el nitinol en comparación con metales únicamente sometidos a pulido mecánico (71).

- La ebullición en agua y los tratamientos en autoclave (tratamientos hidrotermales)
- La inmersión en peróxido de hidrógeno (H₂O₂), que es un agente oxidante relativamente suave, que al oxidar la superficie del nitinol, mejora la resistencia a la corrosión.

Estas modificaciones disminuyen la concentración superficial de Ni de las capas superficiales del nitinol. Esta eliminación se traduce en una reducción de las irregularidades o imperfecciones presentes de la superficie del metal, dando como resultado una finísima capa superficial que contiene titanio, que se oxida finalmente a óxido de titanio, protegiendo el material subyacente de la corrosión (43, 78, 102, 106) y por lo tanto reduciendo significativamente la liberación de nuevos iones de Ni (13, 81).

1.7.3. Tratamientos térmicos

Los tratamientos térmicos en aire, argón y atmósfera parcialmente reducida modifican la oxidación de las capas superficiales de la aleación alterando la liberación de Ni. Las superficies de nitinol tratadas mediante estas técnicas presentan contenidos variables de Ni en la superficie y por lo tanto una liberación variable de éstos al entorno biológico (88).

Según la fase de fabricación de los stents de nitinol se utilizan los tratamientos térmicos a diferentes temperaturas:

- Durante la fase de estirado, hasta 700°C.
- Durante el diseño de su fase de forma, entre 450-550°C.
- Durante los procesos de modificación de la superficie, inferiores a los 300°C.

Temperaturas durante el procesado por encima de los 300°C se correlacionan con un aumento de la liberación de Ni probablemente debido a la difusión de Ni hacia afuera y su acumulación en las subcapas superficiales externas, si bien temperaturas por debajo de los 300°C se relacionan con una menor presencia de Ni en la superficie (88).

1.8. Respuesta biológica a las modificaciones de la superficie

Las modificaciones de la superficie que se realizan en los metales modifican la respuesta biológica al entrar en contacto con la superficie del stent de nitinol.

1.8.1. Respuesta biológica a las modificaciones mecánicas

El pulido mecánico del nitinol puede afectar de diferentes maneras (88):

- Las irregularidades de la superficie que se generan durante el esmerilado y pulido de los stents afectan al comportamiento y rendimiento biológico de las superficies.
- Los análisis de espectroscopía fotoelectrónica de rayos X en stents de nitinol pulidos mecánicamente muestran concentraciones superficiales variables de iones Ni y Ti.
- La rugosidad de la superficie del metal modifica la migración de células endoteliales, hasta un 30% menor que en las superficies electropulidas más lisas. Igualmente, la adhesión de fibroblastos es menor en las que tienen un acabado de grano 400 intermedio en comparación con los acabados de grano 80 y 2.400 al presentar un umbral de rugosidad a partir del cual se dificulta la proliferación de fibroblastos.

1.8.2. Respuesta biológica a las modificaciones químicas y electroquímicas y a los tratamientos térmicos

La biocompatibilidad del nitinol se modifica entre otros, en relación con su rugosidad superficial, alterándose la adhesión de células endoteliales y células musculares lisas, así como fibroblastos y osteoblastos entre otros. El potencial trombogénico, la adsorción proteínica y la adhesión plaquetaria también se altera. Estas respuestas biológicas son independientes de si las superficies están pulidas químicamente, electropulidas o están sometidas a tratamientos térmicos (88).

1.8.2.1. Respuesta de las células endoteliales y las células musculares lisas

Trabajos que analizan y comparan superficies de nitinol sometidas a pasivación, pasivación y posterior hervido en agua, electropulido y a tratamiento térmico a diferentes temperaturas (300, 400 y 600°C durante 30min) muestran una liberación

disminuida de iones de Ni del nitinol en contacto con células endoteliales vasculares humanas con un efecto tóxico nulo o leve (88).

El análisis de la proliferación y migración de células endoteliales vasculares humanas y células musculares lisas en contacto con nitinol muestra una adherencia de estas en ausencia de proteínas plasmáticas, indicativo de ausencia de toxicidad. Las células endoteliales proliferan más que las células musculares lisas. Ocurre lo contrario con la migración (88).

1.8.2.2. Potencial trombogénico, adsorción proteínica y adhesión plaquetaria

El potencial trombogénico del nitinol resulta de los protocolos de tratamiento de superficies y se relaciona con la química y la topografía de la superficie. Además, el proceso final de esterilización modificando la química de la superficie se considera un tratamiento superficial final en sí mismo (88).

Estudios sobre la adsorción de proteínas séricas muestran rangos variables de adsorción de fibrinógeno en función del potencial trombogénico de la superficie. Son máximos con concentraciones superficiales elevadas de iones de titanio, que sugiere que la adsorción de fibrinógeno se relaciona con la carga superficial. A medida que aumenta la carga negativa de la superficie, disminuye proporcionalmente la adsorción de fibrinógeno. La adsorción de albúmina también se ve alterada en función del electrolito utilizado en el electropulido debido a los cambios en la trombogénicidad (88). Es directamente proporcional al componente polar de la energía superficial e inversamente proporcional a la concentración de Ni en la aleación. La afinidad de la albúmina al Ni es conocida.

La adhesión plaquetaria también se ve afectada por los tratamientos superficiales. Además de las diferencias en la adhesión que se observan en superficies pulidas sabemos que la propagación plaquetaria se elimina en superficies sometidas a tratamientos térmicos por encima de los 600°C (88). No está del todo claro en este momento si la ausencia completa de plaquetas completamente distribuidas es una ventaja o una desventaja de las superficies sometidas a tratamientos térmicos, ya que se ha demostrado lo importante que es que se forme una monocapa de plaquetas completamente extendidas para la compatibilidad clínica de un biomaterial. Los estudios apuntan a una posible relación entre una mayor

concentración superficial de Ni y una menor trombogenicidad del nitinol en lo referente a la adhesión plaquetaria. Las alteraciones topográficas nanométricas tras las modificaciones químicas y de hervido en agua no afectan directamente a la adhesión plaquetaria al ser el diámetro de las plaquetas mayor, pero si favorecen la adsorción de fibrinógeno que favorece la posterior adhesión y activación plaquetaria. En general, la activación plaquetaria para las superficies puede ser considerada una ventaja en el caso de los implantes debido al importante papel que desempeñan en los eventos tempranos de cicatrización de heridas, reclutando otras células en el compartimento de curación a través de una variedad de citocinas derivadas de plaquetas y señalización intracelular. Es importante tener en cuenta que el uso de nitinol para dispositivos de oclusión requiere, de hecho, una trombogenicidad mejorada, si bien los stents dependen de la no trombogenicidad.

Las superficies desnudas de nitinol ofrecen una versatilidad excepcional para el diseño de dispositivos implantables. Se pueden crear con una amplia gama de topografías, espesores de óxido, propiedades químicas y resistencia a la corrosión, adaptándose a las necesidades específicas de cada tipo de implantación. Sin embargo, para optimizar la respuesta inmediata a la implantación y maximizar el rendimiento a largo plazo, es crucial profundizar en la comprensión de las propiedades biológicas del nitinol, especialmente en lo que respecta a las interacciones entre sus superficies, las proteínas plasmáticas y las plaquetas.

1.9. Análisis de la trombogenicidad

En base a diferentes estudios publicados los stents deben al menos ser pulidos para disminuir así la trombogenicidad (7, 24, 55, 102). Las diferentes modificaciones de la superficie a las que se puede someter el nitinol modifican la trombogenicidad y consecuentemente la compatibilidad del biomaterial.

Una recopilación de estudios publicados, analizan la trombogenicidad y hemocompatibilidad declaradas con stents de nitinol sometidos a diferentes tipos de modificaciones de la superficie (71, 89, 101, 102):

- Comparación de diferentes modificaciones mecánicas y químicas (71, 88, 101, 102).
- Comparación de diferentes modificaciones químicas y electroquímicas (88, 93, 101).

- Comparación de diferentes pulidos (89, 102).
- Comparación de diferentes recubrimientos con heparina y aluminio, pasivación y recubrimientos poliméricos para la administración local de fármacos (102).
- Comparación de diferentes tipos de superficie tras pulido mecánico, seguido de tratamiento térmico y pasivación (114).
- Comparación de los resultados de los diferentes procesos de pulido según las diferentes etapas en la producción de nitinol (fase de austenita y fase martensita) (70, 86, 87).

Mani et al. revisaron varios biomateriales para su uso en stents coronarios (59) y demostraron que ya en los años 70 y 80 que el pulido de superficies es esencial para los materiales de stent ya que la trombogenicidad suele ser mayor en superficies rugosas que en superficies lisas (25, 31).

En los últimos 20-30 años, se han publicado artículos que analizaron los diferentes materiales disponibles en la producción de stents, la influencia en la rugosidad del material según los diferentes tipos de pulido y los tratamientos de la superficie de los materiales y su diferente trombogenicidad. Estos estudios observaron la forma en que la sangre interactúa con los diversos materiales de stents previamente tratados, revisan los tratamientos antiagregantes y la tendencia a la estenosis después de su exposición. Una revisión bibliográfica muestra que mediante la cuantificación de diferentes parámetros puede valorarse la trombogenicidad:

- Plaquetas, marcadores relacionados con la activación plaquetaria (β -TG y selectina P), con la activación del sistema del complemento (SC5b-9) y con la cantidad de trombina generada (complejos TAT) en las primeras etapas de la formación de trombos principalmente (3, 71, 92, 101, 102).
- Elastasa leucocitaria o elastasa-PMN, que representa la activación de los granulocitos polimorfonucleares liberada ante un proceso inflamatorio (81, 101, 102) que junto con la presencia de hiperplasia neointimal son responsables de la estenosis a largo plazo (37, 59, 104).

Estudios publicados por Armitage et al. (3) y Pulletikurthi et al. (71) analizaron la adhesión plaquetaria en diversas aleaciones de nitinol sometidas a pulido mecánico o eléctrico. A través del microscopio de fluorescencia, observaron cantidades menores de plaquetas (plaquetas adheridas/mm²) en aleaciones de nitinol que han

sido electropulidas. Esto sucede debido a la formación de una capa de óxido que inhibe la adhesión de plaquetas cargadas negativamente.

Tepe et al. (101) utilizaron un microscopio electrónico de barrido (MEB) para examinar la superficie de los diversos stents pulidos y electropulidos antes y después de la exposición a la sangre con el fin de verificar el recuento de plaquetas y los valores de complejos TAT (**Figura 1**).

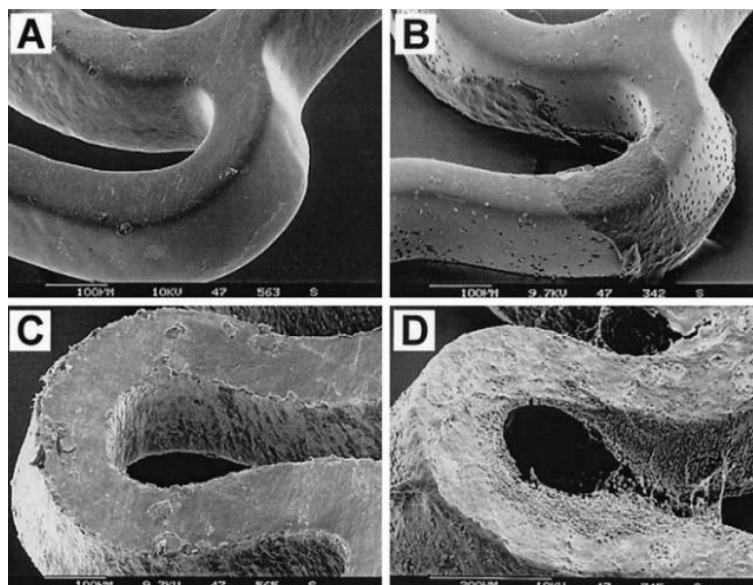


Figura 1. Depósitos en microscopio electrónico de barrido (de Tepe G *et al.* 2002) (101). (a) t=0min y (b) t=120min en stent electropulido en comparación con stent no electropulido para (c) t=0min y (d) t=120min.

Observaron que tras el contacto con sangre se produjo un depósito de células en algunas áreas en stents pulidos. En contraste, los stents sin pulir desarrollaron una capa gruesa compuesta por grandes cantidades de células depositadas (principalmente plaquetas y macrófagos) y fibrina. Demostraron una reducción significativa en la trombogenicidad en stents electropulidos.

Estas observaciones fueron correlacionadas por Tepe et al. también más tarde en 2006 (102) en un estudio en el que los stents también fueron examinados tras 120min de contacto con sangre. Se investigaron los recuentos plaquetarios y las concentraciones de β -TG, complejos TAT y elastasa-PMN. Compararon tres stents diferentes de nitinol y seis stents diferentes de acero inoxidable expandibles con balón electropulidos. Los resultados mostraron una disminución en el recuento de plaquetas, así como un aumento en β -TG, complejos TAT y elastasa-PMN. Se

confirmó una diferencia en la actividad trombogénica de los respectivos tipos de stents, con una disminución en el recuento de plaquetas y un aumento en los valores de complejos TAT después de 120min de contacto con la sangre.

Estudios publicados (37, 61) se interesaron por el análisis de la trombogenicidad del stent y el desarrollo de hiperplasia neointimal, que causan la estenosis del stent a largo plazo. Las superficies pulidas mostraron una reducción significativa de la trombogenicidad en los stents, resultando en una disminución significativa de la hiperplasia neointimal en los modelos estudiados. El trabajo de Thierry et al. (104), encontró menor trombogenicidad e hiperplasia neointimal en los stents coronarios pulidos. Referente a la elección de los materiales utilizados para los stents coronarios, se revisaron los estudios publicados sobre hiperplasia intimal (59).

El control exhaustivo de la estructura superficial del stent es relativamente difícil de llevar a cabo debido a los cambios morfológicos que ocurren durante la dilatación del stent. Palmaz et al. (67) observaron que las superficies ranuradas tenían tasas de migración endotelial más altas y una endotelización más rápida que los controles y las superficies pulidas. En particular, en el caso de la liberación de un fármaco, se debe tener en cuenta la rugosidad de la superficie del stent (59).

1.10. Sistema *Chandler loop*

Los modelos de flujo permiten estudiar el análisis de aspectos de la coagulación y la función plaquetaria de diversos elementos en contacto con la sangre. Los modelos *in vitro* permiten el análisis de las propiedades especiales de la sangre humana en comparación con la sangre animal (modelos *in vivo*) (81, 104, 105).

El modelo de *Chandler loop* es un modelo *in vitro* ampliamente utilizado para estudiar la trombosis y la función plaquetaria bajo condiciones de flujo controlado. Su popularidad radica en su simplicidad, reproducibilidad y capacidad para simular aspectos clave de la circulación sanguínea.

1.10.1. Mecanismo de acción del sistema *Chandler loop*

El sistema *Chandler loop* consiste en un tubo de plástico en forma de bucle cerrado, a través del cual se hace circular sangre anticoagulada. El flujo sanguíneo se genera mediante una bomba o un sistema de presión. A medida que la sangre fluye a través del bucle, las plaquetas se activan y se adhieren a la pared del tubo,

formando trombos.

El mecanismo de acción del modelo se basa en la interacción de las plaquetas con la superficie del tubo y con el biomaterial a estudio que contiene en su interior y las fuerzas de cizallamiento generadas por el flujo sanguíneo. Estas fuerzas pueden activar las plaquetas y promover su adhesión y agregación, lo que lleva a la formación de trombos.

1.10.2. Justificación de la elección del sistema *Chandler loop*

- **Simplicidad:** el modelo es relativamente fácil de construir y operar, lo que lo hace accesible para muchos laboratorios.
- **Control del flujo:** permite controlar y ajustar el flujo sanguíneo, lo que es crucial para estudiar la activación plaquetaria y la formación de trombos bajo diferentes condiciones hemodinámicas.
- **Reproducibilidad:** los resultados obtenidos con el modelo *Chandler loop* son generalmente reproducibles, lo que facilita la comparación entre diferentes estudios.
- **Relevancia fisiológica:** aunque es un modelo *in vitro*, el sistema *Chandler loop* puede simular algunos aspectos importantes de la circulación sanguínea, como el flujo pulsátil y la interacción de las plaquetas con la pared del vaso.

1.10.3. Diagrama de funcionamiento del sistema *Chandler loop*

En el diagrama, se muestra cómo la sangre anticoagulada se impulsa a través del tubo en bucle, donde se forman los trombos. La muestra de sangre se recolecta posteriormente para analizar la formación de trombos y la función plaquetaria (**Figura 2**).

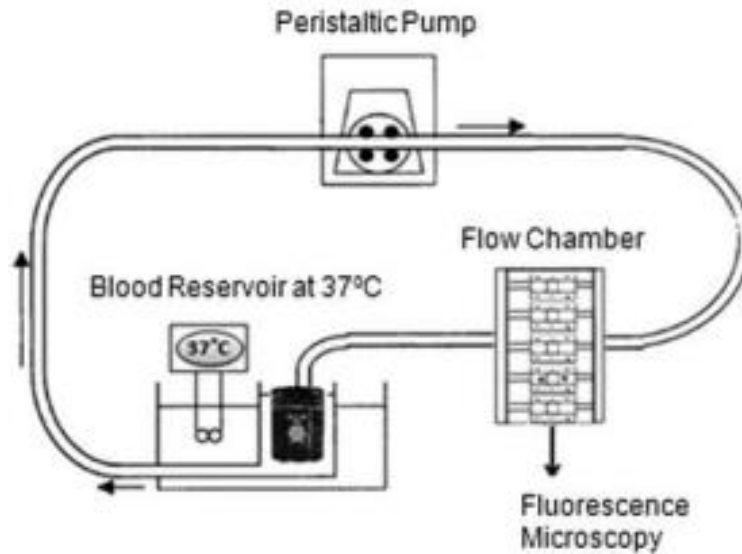


Figura 2. Esquema del sistema Chandler loop para estudios de adhesión de plaquetas (de Pulletikurthi C et al, 2014) (71).

1.10.4. Limitaciones del sistema *Chandler loop*

Es importante tener en cuenta que el sistema *Chandler loop* tiene algunas limitaciones. Por ejemplo, no puede simular la complejidad de la interacción entre las plaquetas y el endotelio vascular in vivo. Además, la formación de trombos en el modelo puede verse afectada por factores como la anticoagulación de la sangre y la naturaleza del material del tubo.

A pesar de estas limitaciones, el sistema *Chandler loop* sigue siendo una herramienta valiosa para estudiar la trombosis y la función plaquetaria in vitro. Su simplicidad, reproducibilidad y capacidad para controlar el flujo sanguíneo lo convierten en una herramienta útil para investigar los mecanismos de la activación plaquetaria y la formación de trombos en diferentes condiciones.

2. JUSTIFICACIÓN, HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

2.1. Justificación del estudio e hipótesis

La implantación de stents de nitinol para el tratamiento de la enfermedad coronaria está extendido a nivel mundial. La principal complicación de los stents es la reestenosis por diferentes motivos. Para disminuirla o retrasarla se usan diferentes tratamientos antiagregantes (simple o doble) de duración variable.

A pesar de la disminución en la tasa de reestenosis achacable a los tratamientos antiagregantes, se siguen desarrollando nuevas generaciones de stents con el mismo fin (por ejemplo, stents liberadores de fármacos, con nuevos recubrimientos o los stents biodegradables) (13, 30, 48, 90, 108).

Aunque el uso de las modificaciones de la superficie en la fabricación de stents está respaldado por la literatura, los detalles de la fabricación de un stent son secreto industrial bajo la premisa de que pequeños cambios en la respuesta biológica de la sangre al stent pueden marcar la diferencia en el potencial trombogénico. Por lo tanto, la mayoría de los trabajos publicados de alto nivel científico en este sentido son escasos no existiendo protocolos estandarizados. Hasta el momento no se han publicado estudios amplios que comparen combinaciones de diferentes modificaciones de la superficiales y cómo afectan a la trombogenicidad.

En este trabajo queremos comprobar si la hipótesis de que las diferentes modificaciones químicas de la superficie de stents de nitinol presentan el mismo potencial trombogénico o si por el contrario alguna combinación de modificaciones químicas de la superficie es superior a otra en términos de disminución del potencial trombogénico al margen del cubrimiento del stent.

Podemos definir conceptualmente que la:

- **Hipótesis nula (H0)**, es que no hay diferencias en el potencial trombogénico entre las técnicas de modificación químicas de la superficie en stents de nitinol.
- **Hipótesis alternativa (H1)**, es que hay un menor potencial trombogénico en entre las modificaciones químicas de la superficie en stents de nitinol.

Desde el punto de vista analítico un menor del potencial trombogénico de las modificaciones de la superficie se define como un aumento estadísticamente no significativo en el recuento de complejos trombina-antitrombina.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo principal

Analizar las diferencias en el potencial trombogénico mediante el recuento de complejos trombina-antitrombina (TAT) como medidores de la trombogenicidad entre combinaciones de modificaciones químicas de la superficie en stents de nitinol.

2.2.2. Objetivos secundarios

- Analizar las diferencias en el potencial trombogénico mediante el recuento de plaquetas entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol.
- Analizar las diferencias en la hemólisis mediante el recuento de hematíes entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol.
- Analizar las diferencias en la reacción inflamatoria mediante el recuento de leucocitos entre las modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol.
- Validar el sistema *Chandler loop* como método *in vitro* para comprobar la hemocompatibilidad y trombogenicidad.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. Periodo y población de estudio

Para la realización de este trabajo se realizaron pruebas en el Laboratorio de Investigación Clínica del Departamento de Cirugía Torácica, Cardíaca y Vasculares del Hospital Universitario de Tübingen (Alemania) entre diciembre de 2016 y abril de 2017.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Eberhard-Karls y del Hospital Universitario de Tübingen en Alemania (<https://www.medizin.uni-tuebingen.de/en-de/medizinische-fakultaet/ethikkommission>). Las personas voluntarias que aceptaron participar en el estudio firmaron un consentimiento informado.

3.2. Diseño del estudio

Diseñamos un estudio experimental en el que se hicieron 13 grupos de pruebas.

En primer lugar, los stents de nitinol fueron sometidos a un proceso de limpieza mediante un proceso de cavitación ultrasónica junto con soluciones de limpieza (SL) para eliminar impurezas acumuladas durante el proceso de fabricación.

En segundo lugar, se realizaron modificaciones químicas de la superficie en los stents de nitinol, se limpiaron con etanol y en su caso se almacenaron 3 semanas en tubos de centrifuga.

En tercer lugar, se realizaron extracciones de sangre de pacientes voluntarios sanos y se pusieron en contacto con los stents durante un periodo de tiempo determinado con ayuda de un modelo *in vitro* que simula condiciones similares a las del cuerpo humano.

En cuarto lugar, una vez finalizado el proceso de incubación en sangre (IS), se realizaron las mediciones en las muestras de sangre. Se determinaron complejos TAT (indicadores de trombogénesis) y parámetros sanguíneos del hemograma (plaquetas, hematíes y leucocitos).

3.3. Stents de nitinol

En este trabajo se utilizaron stents de nitinol con las siguientes propiedades: stents de nitinol de JOTEC (JOTEC Hechingen, Alemania) (pruebas 1-3, 5-11). Se utilizaron 83 stents divididos en 10 grupos.

3.4. Cavitación en bañera de ultrasonidos

Para eliminar las impurezas y partículas de la superficie que pudieran tener los stents de nitinol se realizó un proceso de cavitación en bañera de ultrasonidos con diferentes soluciones de limpieza (SL). Los stents se sumergieron en una cubeta de baño de ultrasonidos (SONOREX Super RK 100 H (BANDELIN electronic GmbH & Co. KG, Berlín, Alemania)) (**Figura 3**) en 80ml de líquido de sonicación (agua desionizada y solución de limpieza). El proceso de cavitación se realizó a una frecuencia de 35kHz y a una temperatura de 70°C durante 5min (a menos que se indique lo contrario).



Figura 3. Bañera de limpieza por ultrasonidos con cubeta SONOREX Super RK 100 H.

En este trabajo se utilizaron dos productos diferentes, que son específicamente soluciones de limpieza con pH alcalino (10,2 y 11,9 respectivamente):

- Deconex HAT 1169 al 3% (Borer Chemie AG, Zuchwil, Suiza) (en adelante SL1).
- TICKOPUR TR 13 al 1% (DR-H-STAMM GmbH, Berlín, Alemania) (en adelante SL2).

3.5. Modificaciones químicas de la superficie de los stents de nitinol (postratamientos)

Una vez sometidos a la limpieza ultrasónica, se realizaron diferentes modificaciones químicas de la superficie en los stent, en adelante postratamientos (PT):

- **Pasivación con ácido nítrico (HNO₃) (PT1).** Los stents se sumergieron en una

solución de ácido nítrico al 3% (HNO₃) con Ampuwa (solución hipotónica (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Alemania)) durante 5min, después se limpiaron con Ampuwa durante 1h a 37°C.

- **Autoclave (PT2).** Los stents se sometieron a un tratamiento con autoclave a una temperatura de 134°C durante 10min, luego se secaron a una temperatura <120°C durante 15min.
- **Ebullición en Ampuwa (PT3).** Los stents se hirvieron en Ampuwa durante 60min, después se limpiaron con Ampuwa durante 1h a 37°C.
- **Pasivación con peróxido de hidrógeno (H₂O₂) (PT4).** Los stent se sumergieron en una solución de H₂O₂ al 10% con Ampuwa durante 5min, después se limpiaron con Ampuwa durante 1h a 37°C.

3.6. Limpieza con etanol

Para eliminar la contaminación superficial utilizamos etanol (43, 71). A menos que se indique lo contrario, después del postratamiento, los stents se aclararon con agua corriente y Ampuwa en vaso de precipitado durante 5min y posteriormente se rociaron con etanol al 70%, se secaron mediante soplado con aire comprimido y se introdujeron en un horno de hibridación a 45°C durante 30min para secarlos completamente.

3.7. Almacenamiento de los stents

Algunos grupos de pruebas con stents fueron almacenados en tubos de centrifuga de polipropileno o poliestireno (Falcon) durante un periodo de 3 semanas.

3.8. Muestras de sangre

Los procedimientos de toma de muestras de sangre fueron aprobados por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Universidad Eberhard-Karls y del Hospital Universitario de Tübingen en Alemania (<https://www.medizin.uni-tuebingen.de/en-de/medizinische-fakultaet/ethikkommission>). La sangre se extrajo de personas voluntarias sanas que firmaron un consentimiento informado. Se extrajeron 60ml de sangre de cada uno y se añadieron 1,5UI/ml de heparina sódica (Ratiopharm GmbH, Ulm, Alemania). Se realizaron un total de 124 extracciones. Las muestras se usaron el mismo día que se realizó la IS.

Se aplicaron estrictamente los siguientes criterios de exclusión para los donantes de sangre:

- Menor de 18 años
- Fumadores
- Consumo de medicamentos en las últimas 2 semanas previas a la extracción de sangre, especialmente aquellos que pueden afectar la hemostasia, como ácido acetilsalicílico, anticonceptivos orales, antiinflamatorios no esteroideos o semejantes.

3.9. Incubación en sangre con el sistema *Chandler loop*

Para investigar la hemocompatibilidad y trombogenicidad de stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie tras su contacto con sangre humana se utilizó en este trabajo un sistema *Chandler loop* modificado (**Figura 4 y 5**) en el que los stents se implantaron en asas cerradas de tubos de cloruro de polivinilo y las asas se llenaron cuidadosamente con sangre recién extraída de donantes y se colocaron en un cilindro giratorio.

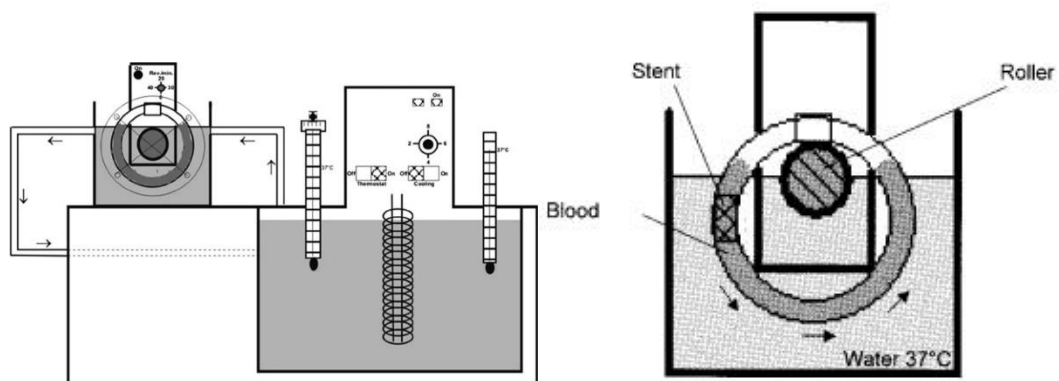


Figura 4. Esquema de un sistema *Chandler loop* modificado.
Izquierda: tomado de Sinn S *et al*, 2011) (54); derecha: tomado de Tepe G *et al*, 2002) (101).

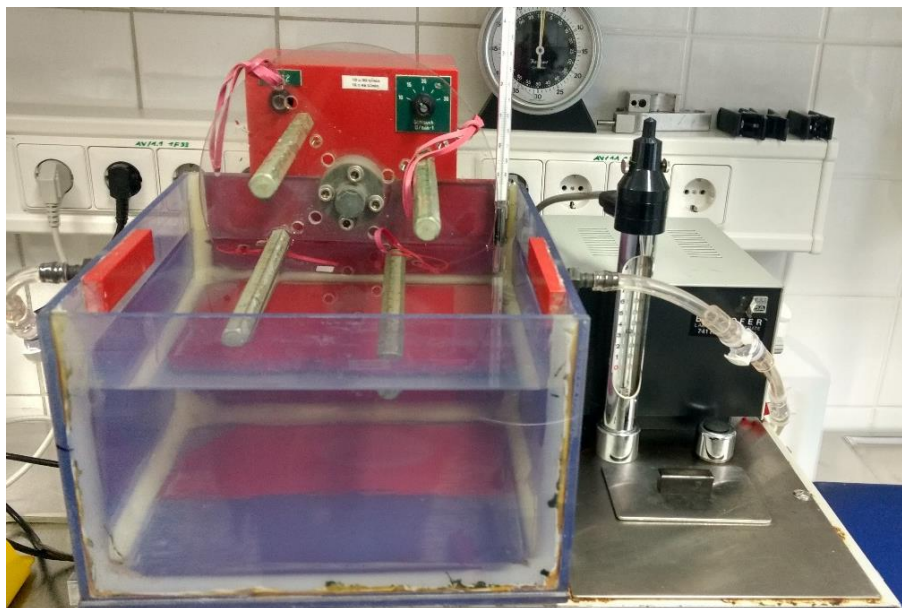


Figura 5. Sistema *Chandler loop* modificado utilizado.

Para la realización de este trabajo se realizaron pruebas de incubación de sangre en un sistema *Chandler loop* ajustadas a la normativa ISO 10993, norma relevante para evaluar la hemocompatibilidad de los materiales utilizados en el cuerpo mediante el examen de los productos y materias primas para la fabricación de dispositivos médicos. Consta de varias partes, en concreto la ISO 10993-4 se utiliza para la evaluación biológica de productos sanitarios en la que se incluye la selección de los ensayos para las interacciones con la sangre (<https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma?c=N0059594>).

Para la realización de las pruebas de este trabajo se utilizaron tubos de vinilo (diámetro interior ~3mm, diámetro exterior ~4,2mm, longitud ~33cm (Portex, Hythe, Reino Unido) y los extremos abiertos se unieron utilizando un manguito corto de tubo más grande (diámetro interno ~4mm, diámetro externo ~6,8mm) para formar un bucle *Chandler* con un diámetro de 10,5cm. Se introdujeron stents de nitinol con modificaciones de la superficie y se llenaron con 12ml de sangre heparinizada de los donantes voluntarios y posteriormente se realizó una inmersión en un baño de agua a 37°C. Se estableció una velocidad de giro constante de 30rpm durante un tiempo de 60min. Esta parte del estudio está referida en este trabajo como incubación en sangre (IS).

3.10. Grupos de pruebas

Para la realización de este trabajo se realizaron un total de 13 grupos de pruebas dónde se determinaron los parámetros sanguíneos de muestras de sangre que se resumen en la **Tabla 4**:

- Basal: muestra de sangre directamente tras la extracción sin contacto con nitinol ni IS.
- Control: muestra de sangre sin contacto con nitinol, posterior IS.
- 1: stent de nitinol sometido a cavitación sin SL, posterior PT3 e IS.
- 2: stent de nitinol sometido a cavitación con SL1, posterior IS.
- 3: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior IS.
- 4: se añadieron 10µl de SL1 a la muestra de sangre, posterior IS.
- 5: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior PT1 e IS.
- 6: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior PT2 e IS.
- 7: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior PT3 e IS.
- 8: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, sin limpieza con etanol, posterior IS.
- 9: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior almacenamiento durante 3 semanas en Falcon e IS.
- 10: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior PT1, almacenamiento durante 3 semanas en Falcon e IS.
- 11: stent de nitinol sometido a cavitación con SL2, posterior PT4, almacenamiento durante 3 semanas en Falcon e IS.

Tabla 4. Grupos de pruebas

Prueba	Abreviatura
Basal	Basal
Control	IS
1	S+US+PT3+IS
2	S+US-SL1+IS
3	S+US-SL2+IS
4	SL1+IS
5	S+US-SL2+PT1+IS
6	S+US-SL2+PT2+IS
7	S+US-SL2+PT3+IS
8	S+US-SL2- \emptyset Et+IS
9	S+US-SL2+3S(Falcon)+IS
10	S+US-SL2+PT1+3S(Falcon)+IS
11	S+US-SL2+PT4+3S(Falcon)+IS

\emptyset Et: no etanol; 3S: almacenamiento durante 3 semanas; IS: incubación en sangre; S: stent de nitinol; PT1: postratamiento 1 (HNO₃); PT2: postratamiento 2 (autoclave); PT3: postratamiento 3 (Ampuwa); PT4: postratamiento 4 (H₂O₂); SL1: solución de limpieza 1 (Deconex HAT 1169 al 3%); SL2: solución de limpieza 2 (TICKOPUR TR 13 al 1%); US: baño ultrasónico o cavitación.

3.11. Descripción de las variables estudiadas

De cada muestra de sangre, independientemente del grupo al que perteneciera, fueron determinadas las siguientes variables:

- Complejos trombina-antitrombina (TAT)
- Plaquetas
- Hematíes
- Leucocitos

Se realizaron 124 mediciones de complejos TAT y 122 mediciones del hemograma (plaquetas, hematíes y leucocitos).

3.12. Medición de complejos trombina-antitrombina

Para la medición de TAT, las muestras de sangre se centrifugaron (centrifugadora ROTANTA 460R (Andreas Hettich GmbH & Co., Tuttlingen Alemania)) y fueron

congeladas con nitrógeno líquido mantenidas en congelador (FRYKA (Esslingen, Alemania)), después de lo cual se analizaron complejos TAT como marcadores de trombogenicidad mediante la técnica ELISA (54).

- Las muestras del grupo basal no tuvieron contacto con nitinol ni fueron sometidas a IS.
- Las muestras del grupo control fue sangre sin contacto con nitinol sometida a IS.
- Las muestras del grupo 4 no tuvieron contacto con nitinol, se añadieron 10µl de SL1 a la muestra de sangre y fue sometida a IS.
- El resto de las muestras fueron analizadas tras contacto con nitinol y tras los 60min de IS en el modelo *in vitro*.

3.13. Medición de parámetros del hemograma

Se realizaron mediciones del número de plaquetas, hematíes y leucocitos de las muestras de sangre basales y después de la IS en todos los grupos de pruebas directamente en el laboratorio mediante un sistema de contador celular de citometría de flujo con un analizador ABX MICROS 60 (Axon Lab AG, Reichenbach an der Fils, Alemania) (54, 109).

Al igual que en el recuento de los complejos TAT, se realizaron determinaciones del hemograma en muestras sin contacto con nitinol y que no fueron sometidas a IS, en muestras sin contacto con nitinol, pero sometidas a IS y en muestras con contacto con nitinol y sometidas a IS en el modelo *in vitro*.

3.14. Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se recogieron en una tabla general.

En primer lugar, se realizó un **análisis descriptivo** por grupos de las variables medidas (**complejos TAT, plaquetas, hematíes y leucocitos**) mostrando tamaño de la muestra, media, desviación estándar, error estándar de la media, intervalo de confianza del 95% y rango.

En segundo lugar, se hizo una **prueba de normalidad** de las variables para valorar si cumplen el supuesto de normalidad (pruebas simétricas) con un nivel de significancia del 5% (p -valor=0,05):

- Mediante la **prueba de Shapiro-Wilk**.

- Mediante la realización de un **gráfico de diagrama de cajas**.

En tercer lugar, se realizó la **prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene** con un nivel de significancia del 5% (p -valor=0,05).

En cuarto lugar y según la existencia o no de homogeneidad de varianzas, se realizaron pruebas estadísticas para determinar la existencia de diferencias entre las pruebas:

- En los grupos de pruebas en que hubo homogeneidad de varianzas ($p > 0,05$) se realizó un **análisis de varianza o ANOVA** mediante la prueba F de Fisher.
- En los grupos de pruebas en los que no hubo homogeneidad de varianzas ($p < 0,05$) se realizó la **prueba no paramétrica para muestras independientes H de Kruskal-Wallis**.

Por último, en el grupo de pruebas en el que se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,05$), se realizaron pruebas post hoc mediante la **prueba de comparación con control de Dunnett** para determinar qué grupos de pruebas presentan diferencias estadísticamente significativas con el grupo basal. Se consideró un nivel de significancia del 5% (p -valor=0,05).

Todos los datos fueron recogidos y analizados mediante el paquete de análisis estadístico IBM SPSS Statistics Versión 26 para Windows.

4. RESULTADOS

4.1. Mediciones

Las **Tablas 5, 6, 7 y 8** muestran las mediciones por grupos de las variables de las pruebas realizadas (complejos TAT, plaquetas, hematíes y leucocitos):

Tabla 5. Resultados de las mediciones de complejos trombina-antitrombina (µg/l)

Fecha test	Prueba												
	Basal	Control	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.12.2016	10,307	42,995	116,990	396,030	306,170	8,023							
16.12.2016	3,466	12,008	60,458	249,250	391,640	10,240							
12.01.2017	96,495	98,770	80,650	113,920	397,520	103,309							
12.01.2017	39,392	41,779	39,530	58,110	29,670	40,680							
12.01.2017	30,808	28,742	131,030	203,980	372,720	27,200							
19.01.2017	20,709	21,085	127,290		155,300		136,450	282,840	212,680	174,370			
19.01.2017	12,751	13,082	100,760		152,900		102,730	115,450	127,740	433,480			
01.03.2017	9,038	16,285	90,195		184,955		169,055	49,290	211,265	107,360	155,930	69,190	64,660
01.03.2017	3,337	5,915	388,410		281,420		164,235	145,105	350,085	234,460	538,450	83,950	37,460
01.03.2017	4,181	32,000	67,625		258,275		178,620	96,450	156,100	158,660	96,290	86,780	68,770
14.03.2017	3,413	3,580	14,815		107,150		28,665	47,360					
14.03.2017	2,146	5,916	116,375		233,470		95,455	139,490					
14.03.2017	3,037	8,100	51,355		148,520		93,980	93,030					
14.03.2017	5,283	7,073	42,370		146,380		76,130	67,055					
14.03.2017	8,770	12,447	80,480		81,750		54,455	52,030					
07.04.2017	26,772	17,494									18,230	13,860	38,410
07.04.2017	2,822	4,863									24,520	8,920	19,100
07.04.2017	1,569	5,357									35,180	18,230	25,130

Tabla 6. Resultados de las mediciones de plaquetas (x10³/μl)

Fecha test	Prueba												
	Basal	Control	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.12.2016	197		158	161	153	197							
16.12.2016	244		222	122	222	213							
12.01.2017	197	172	103	116	183	171							
12.01.2017	174	80	72	270	59	60							
12.01.2017	237	206	218	206	167	195							
19.01.2017	221	150	221		193		171	198	179	172			
19.01.2017	195	145	141		117		137	113	152	146			
03.01.2017	273	307	327		243		287	223	264	340	299	268	275
03.01.2017	225	247	177		214		217	192	203	205	201	189	229
03.01.2017	173	172	224		158		176	194	188	156	202	184	210
14.03.2017	203	227	192		248		244	182					
14.03.2017	190	195	208		224		162	211					
14.03.2017	150	168	160		160		156	150					
14.03.2017	248	224	207		186		204	227					
14.03.2017	273	217	244		268		256	208					
07.04.2017	200	225									149	146	138
07.04.2017	279	224									196	299	221
07.04.2017	300	198									183	216	192

Tabla 7. Resultados de las mediciones de hematíes (x10⁶/μl)

Fecha test	Prueba												
	Basal	Control	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.12.2016	4,31		3,93	4,05	4,06	4,09							
16.12.2016	4,05		3,69	2,31	3,84	3,67							
12.01.2017	3,53	3,92	4,94	4,85	3,48	3,88							
12.01.2017	4,12	5,59	6,10	1,94	6,10	6,05							
12.01.2017	3,76	3,90	3,81	4,04	4,38	4,19							
19.01.2017	4,35	3,00	4,38		4,52		5,06	4,38	4,68	4,80			
19.01.2017	4,25	4,83	5,10		5,28		5,25	5,37	4,65	4,73			
01.03.2017	3,59	3,05	2,85		3,37		2,94	4,15	3,46	2,63	2,92	3,23	3,31
01.03.2017	4,25	3,84	4,23		4,04		3,87	4,07	4,05	4,07	4,00	4,13	3,92
01.03.2017	4,08	3,33	2,96		3,93		3,68	3,63	3,61	3,73	3,25	3,47	3,06
14.03.2017	3,88	3,26	3,77		2,84		3,11	3,91					
14.03.2017	4,17	4,16	3,72		3,61		2,50	3,87					
14.03.2017	3,79	3,14	3,39		3,34		3,42	3,30					
14.03.2017	4,08	4,32	4,40		4,70		4,43	4,25					
14.03.2017	3,82	4,31	4,00		3,77		3,91	4,60					
07.04.2017	4,48	4,18									5,48	3,89	5,68
07.04.2017	4,57	5,08									5,49	4,61	5,30
07.04.2017	3,95	4,88									5,11	4,50	5,24

Tabla 8. Resultados de las mediciones de leucocitos ($\times 10^3/\mu\text{l}$)

Fecha test	Prueba												
	Basal	Control	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
16.12.2016	5,2		2,6	4,3	4,2	4,6							
16.12.2016	5,5		4,6	2,6	4,8	4,5							
12.01.2017	3,6	3,2	2,2	1,4	3,6	3,7							
12.01.2017	5,3	3,3	3,2	6,5	3,3	3,1							
12.01.2017	2,8	3,9	4,8	4,8	3,9	4,3							
19.01.2017	1,7	2,6	3,8		2,8		3,0	3,8	3,5	3,1			
19.01.2017	3,7	3,4	3,0		2,7		3,1	2,9	3,5	3,1			
03.01.2017	7,4	7,2	7,8		6,9		7,4	6,1	6,7	8,0	8,0	7,1	7,0
03.01.2017	5,1	5,1	4,6		5,0		5,3	5,2	5,1	4,8	5,0	4,8	4,9
03.01.2017	4,6	4,0	2,5		4,2		4,6	4,8	3,1	4,5	5,0	4,7	5,0
14.03.2017	5,0	5,4	4,8		5,8		5,5	4,7					
14.03.2017	4,6	4,3	4,9		4,9		3,3	4,9					
14.03.2017	5,3	5,8	5,8		5,4		5,4	5,3					
14.03.2017	4,5	4,3	4,1		3,8		4,2	4,4					
14.03.2017	7,5	6,9	6,8		7,2		7,2	6,3					
07.04.2017	3,3	3,3									2,6	2,8	2,6
07.04.2017	4,3	3,8									3,9	4,5	3,9
07.04.2017	5,4	4,2									3,8	4,7	4,2

4.2. Análisis estadístico de las mediciones de complejos trombina-antitrombina

La **Tabla 9** muestra un resumen analítico descriptivo de las mediciones de los complejos trombina-antitrombina. Incluye: número de muestras, media, desviación estándar, error estándar de la media, intervalo de confianza del 95% y rango.

Tabla 9. Analítica descriptiva del recuento de complejos trombina-antitrombina

Prueba	<i>n</i>	Media	DE	EEM	IC 95%	Rango
Basal	18	15,79	23,01	5,42	4,35-27,24	1,57-96,50
Control	18	20,97	23,03	5,43	9,52-32,43	3,58-98,77
1	15	100,56	86,81	22,41	52,48-148,63	14,82-388,41
2	5	204,26	130,69	58,45	41,98-366,53	58,11-396,03
3	15	216,52	115,10	29,72	152,78-280,26	29,67-397,52
4	5	37,89	38,92	17,40	-10,43-86,21	8,02-103,31
5	10	109,98	50,78	16,06	73,65-146,30	28,67-178,62
6	10	108,81	70,93	22,43	58,07-159,55	47,36-282,84
7	5	211,57	85,57	38,27	105,32-317,83	127,74-350,09
8	5	221,67	126,79	56,70	64,24-379,09	107,36-433,48
9	6	144,77	199,97	81,64	-65,09-354,62	18,23-538,45
10	6	46,82	36,92	15,07	8,07-85,57	8,92-86,78
11	6	42,26	20,36	8,31	20,89-63,62	19,10-68,77
Total	124	99,89	108,90	9,78	80,53-119,24	1,57-538,45

DE: desviación estándar; EEM: error estándar de la media;
IC 95%: intervalo de confianza del 95%; n: número de muestras

En segundo lugar, para determinar si las muestras cumplen el supuesto de normalidad estadística- y gráfica mente se realizaron una **prueba de normalidad de Shapiro-Wilk** (Tabla 10) y un **diagrama de cajas** (Figura 6) respectivamente.

Tabla 10. Complejos trombina-antitrombina. Prueba de Shapiro-Wilk

Prueba	Estadístico	<i>n</i>	<i>p</i> -valor
Basal	0,628*	18	0,000*
Control	0,706*	18	0,000*
1	0,676*	15	0,000*
2	0,969	5	0,867
3	0,946	15	0,459
4	0,825	5	0,127
5	0,945	10	0,615
6	0,809*	10	0,019*
7	0,890	5	0,356
8	0,859	5	0,225
9	0,710*	6	0,008*
10	0,808*	6	0,070*
11	0,897	6	0,357

*Resultado estadísticamente significativo ($p < 0,05$); *n*: número de muestras

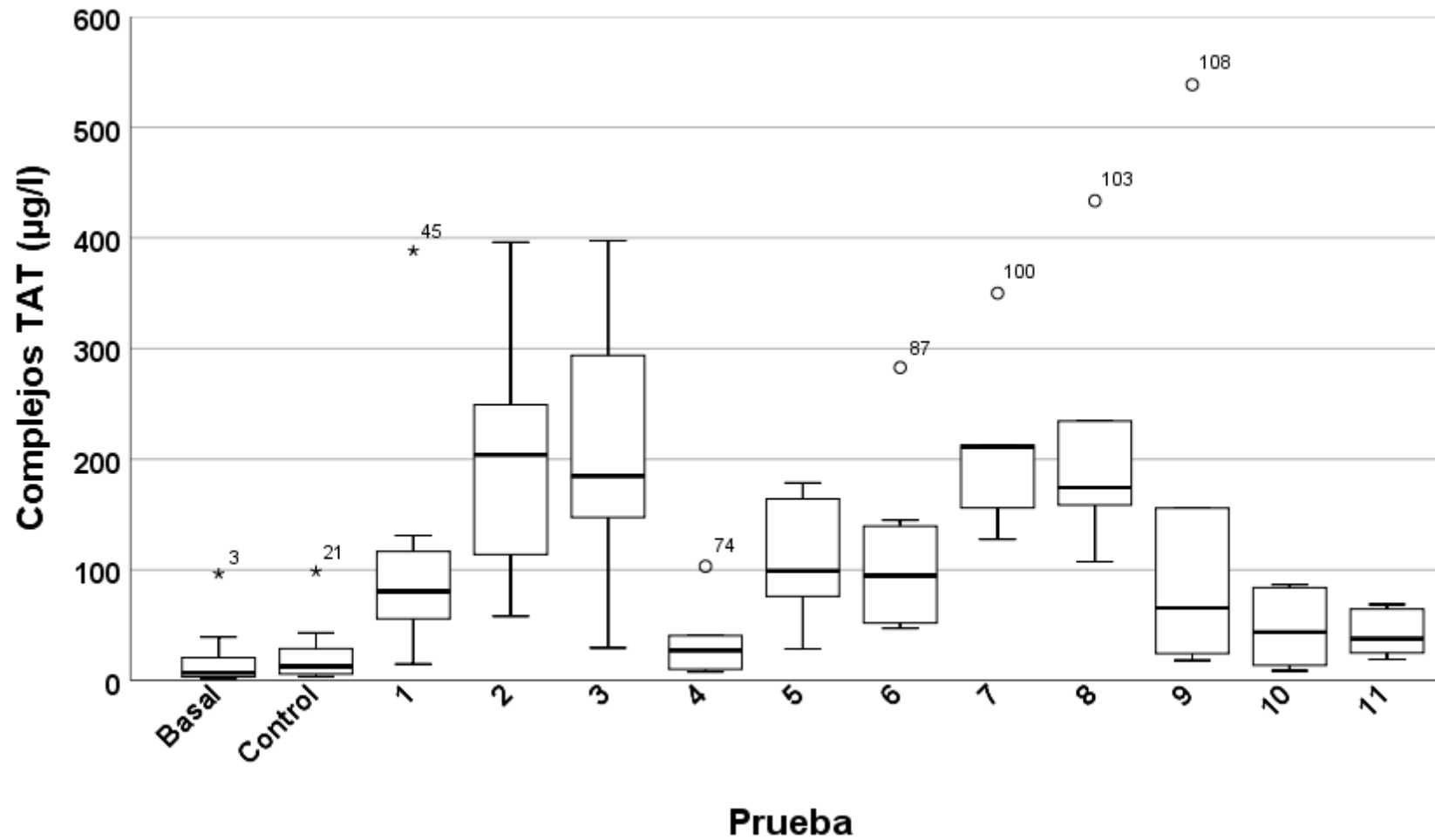


Figura 6. Diagrama de cajas del recuento de complejos trombina-antitrombina
 Complejos TAT: complejos trombina-antitrombina

En tercer lugar, se realizó una **prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene**: estadístico $F=4,550$ ($p=0,000$). A continuación, se realizó una **prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes** para determinar si las muestras son semejantes (H_0): estadístico $H=83,023$ ($p=0,000$).

En último lugar, se realizó una **prueba de comparación con control de Dunnett** en el grupo de complejos TAT para determinar qué muestras dentro del grupo presentan diferencias estadísticamente significativas con el grupo basal (**Tabla 11**).

Tabla 11. Complejos trombina-antitrombina. Comparación post hoc Dunnett

(I) Prueba	(J) Prueba	Diferencia de medias		
		(I-J)	DE	p -valor
Control	Basal	5,177500	27,478060	1,000
1	Basal	84,761311*	28,819233	0,042*
2	Basal	188,463778**	41,672542	0,000**
3	Basal	200,728444**	28,819233	0,000**
4	Basal	22,096178	41,672542	1,000
5	Basal	94,183278*	32,512479	0,048*
6	Basal	93,015778	32,512479	0,052
7	Basal	195,779778**	41,672542	0,000**
8	Basal	205,871778**	41,672542	0,000**
9	Basal	128,972444*	38,859845	0,014*
10	Basal	31,027444	38,859845	0,996
11	Basal	26,460778	38,859845	0,999

*Resultado estadísticamente significativo ($p<0,05$); **Resultado estadísticamente muy significativo ($p<0,01$); DE: desviación estándar

4.3. Análisis estadístico de las mediciones de plaquetas

La **Tabla 12** muestra un resumen analítico descriptivo de las mediciones de las plaquetas. Incluye: número de muestras, media, desviación estándar, error estándar de la media, intervalo de confianza del 95% y rango.

Tabla 12. Analítica descriptiva del recuento de plaquetas

Prueba	<i>n</i>	Media	DE	EEM	IC 95%	Rango
Basal	18	221,06	41,76	9,84	200,29-241,82	150-300
Control	16	197,31	50,94	12,73	170,17-224,46	80-307
1	15	191,60	61,05	15,76	157,79-225,41	72-327
2	5	175,00	64,17	28,70	95,32-254,68	116-270
3	15	186,33	54,25	14,01	156,29-216,37	59-268
4	5	167,20	61,78	27,63	90,50-243,90	60-213
5	10	201,00	49,11	15,53	165,87-236,13	137-287
6	10	189,80	34,80	11,00	164,91-214,69	113-227
7	5	197,20	41,70	18,65	145,43-248,97	152-264
8	5	203,80	79,35	35,49	105,27-302,33	146-340
9	6	205,00	50,12	20,46	152,40-257,60	149-299
10	6	217,00	56,99	23,27	157,19-276,81	146-299
11	6	210,83	45,19	18,45	163,41-258,26	138-275
Total	122	198,57	51,54	4,67	189,34-207,81	59-340

DE: desviación estándar; EEM: error estándar de la media;
IC 95%: intervalo de confianza del 95%; n: número de muestras

En segundo lugar, para determinar si las muestras cumplen el supuesto de normalidad estadística- y gráficamente se realizaron una **prueba de normalidad de Shapiro-Wilk** (Tabla 13) y un **diagrama de cajas** (Figura 7) y respectivamente.

Tabla 13. Plaquetas. Prueba de Shapiro-Wilk

Prueba	Estadístico	<i>n</i>	<i>p</i> -valor
Basal	0,961	18	0,614
Control	0,957	16	0,612
1	0,955	15	0,609
2	0,913	5	0,485
3	0,959	15	0,675
4	0,764*	5	0,040*
5	0,946	10	0,624
6	0,877	10	0,120
7	0,926	5	0,567
8	0,787	5	0,063
9	0,832	6	0,111
10	0,952	6	0,756
11	0,968	6	0,882

*Resultado estadísticamente significativo ($p < 0,05$); *n*: número de muestras

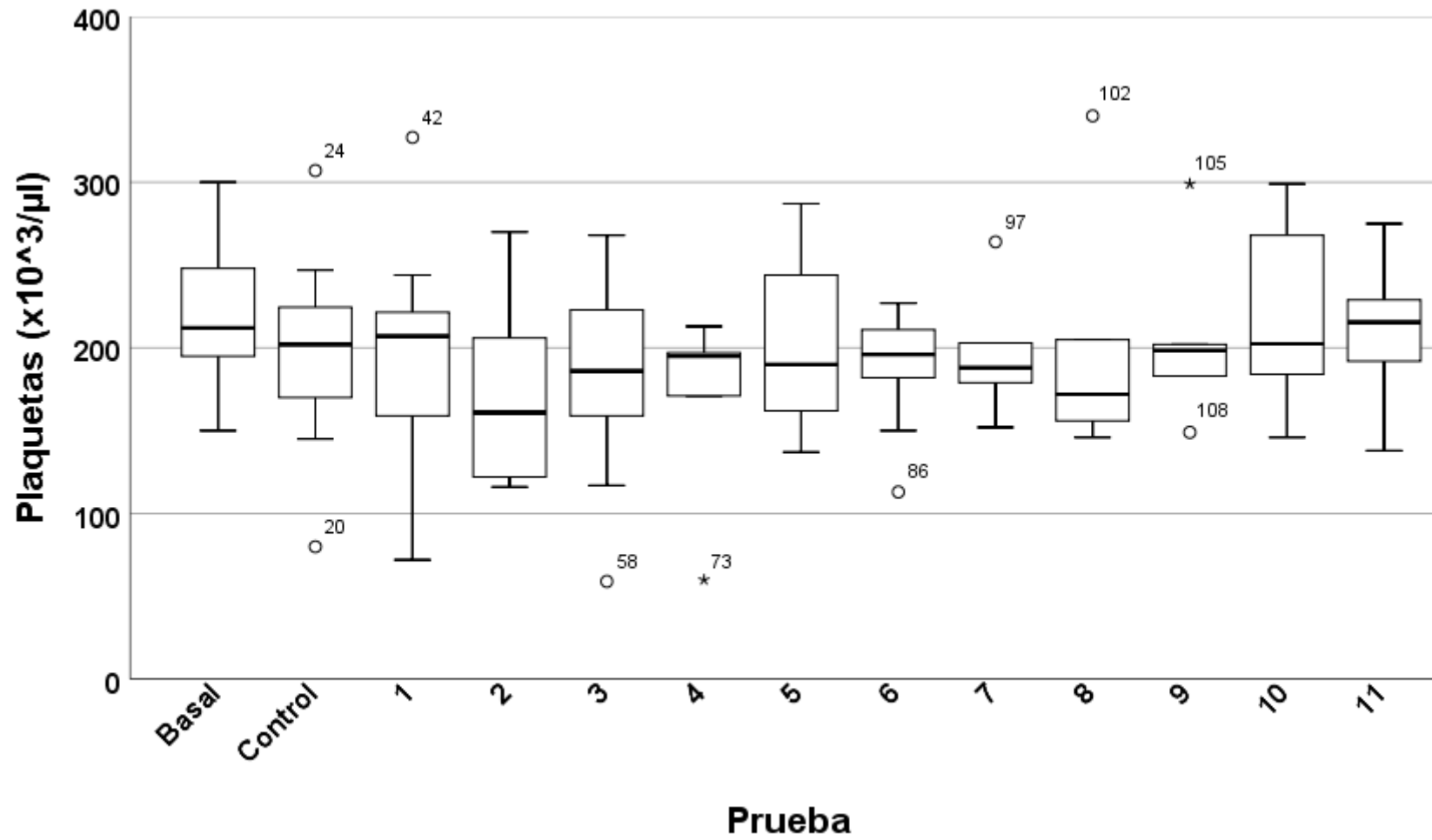


Figura 7. Diagrama de cajas del recuento de plaquetas

En tercer lugar, se realizó una **prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene**: estadístico $F=0,529$ ($p=0,892$). A continuación, se realizó un **ANOVA** para determinar si las muestras son semejantes (H_0): estadístico $F=0,732$ ($p=0,718$).

4.4. Análisis estadístico de las mediciones de hematíes

La **Tabla 14** muestra un resumen analítico descriptivo de las mediciones de los hematíes. Incluye: número de muestras, media, desviación estándar, error estándar de la media, intervalo de confianza del 95% y rango.

Tabla 14. Analítica descriptiva del recuento de hematíes

Prueba	<i>n</i>	Media	DE	EEM	IC 95%	Rango
Basal	18	4,06	0,29	0,07	3,91-4,20	3,53-4,57
Control	16	4,05	0,78	0,19	3,64-4,46	3,00-5,59
1	15	4,08	0,84	0,22	3,62-4,55	2,85-6,10
2	5	3,44	1,25	0,56	1,89-4,99	1,94-4,85
3	15	4,08	0,83	0,21	3,63-4,54	2,84-6,10
4	5	4,38	0,96	0,43	3,19-5,56	3,67-6,05
5	10	3,82	0,89	0,28	3,18-4,46	2,50-5,25
6	10	4,15	0,57	0,18	3,75-4,56	3,30-5,37
7	5	4,09	0,57	0,25	3,38-4,80	3,46-4,68
8	5	3,99	0,88	0,40	2,89-5,09	2,63-4,80
9	6	4,38	1,14	0,47	3,18-5,57	2,92-5,49
10	6	3,97	0,55	0,23	3,39-4,55	3,23-4,61
11	6	4,42	1,13	0,46	3,23-5,60	3,06-5,68
Total	122	4,07	0,78	0,07	3,93-4,21	1,94-6,10

DE: desviación estándar; EEM: error estándar de la media;
IC 95%: intervalo de confianza del 95%; n: número de muestras

A continuación, para determinar si las muestras cumplen el supuesto de normalidad estadística- y gráficamente se realizaron una **prueba de normalidad de Shapiro-Wilk** (**Tabla 15**) y un **diagrama de cajas** (**Figura 8**) y respectivamente.

Tabla 15. Hematíes. Prueba de Shapiro-Wilk

Prueba	Estadístico	<i>n</i>	<i>p</i> -valor
Basal	0,981	18	0,962
Control	0,949	16	0,481
1	0,943	15	0,419
2	0,887	5	0,343
3	0,935	15	0,322
4	0,749*	5	0,029*
5	0,962	10	0,811
6	0,955	10	0,727
7	0,874	5	0,282
8	0,906	5	0,446
9	0,865	6	0,207
10	0,944	6	0,688
11	0,875	6	0,245

*Resultado estadísticamente significativo ($p < 0,05$); *n*: número de muestras

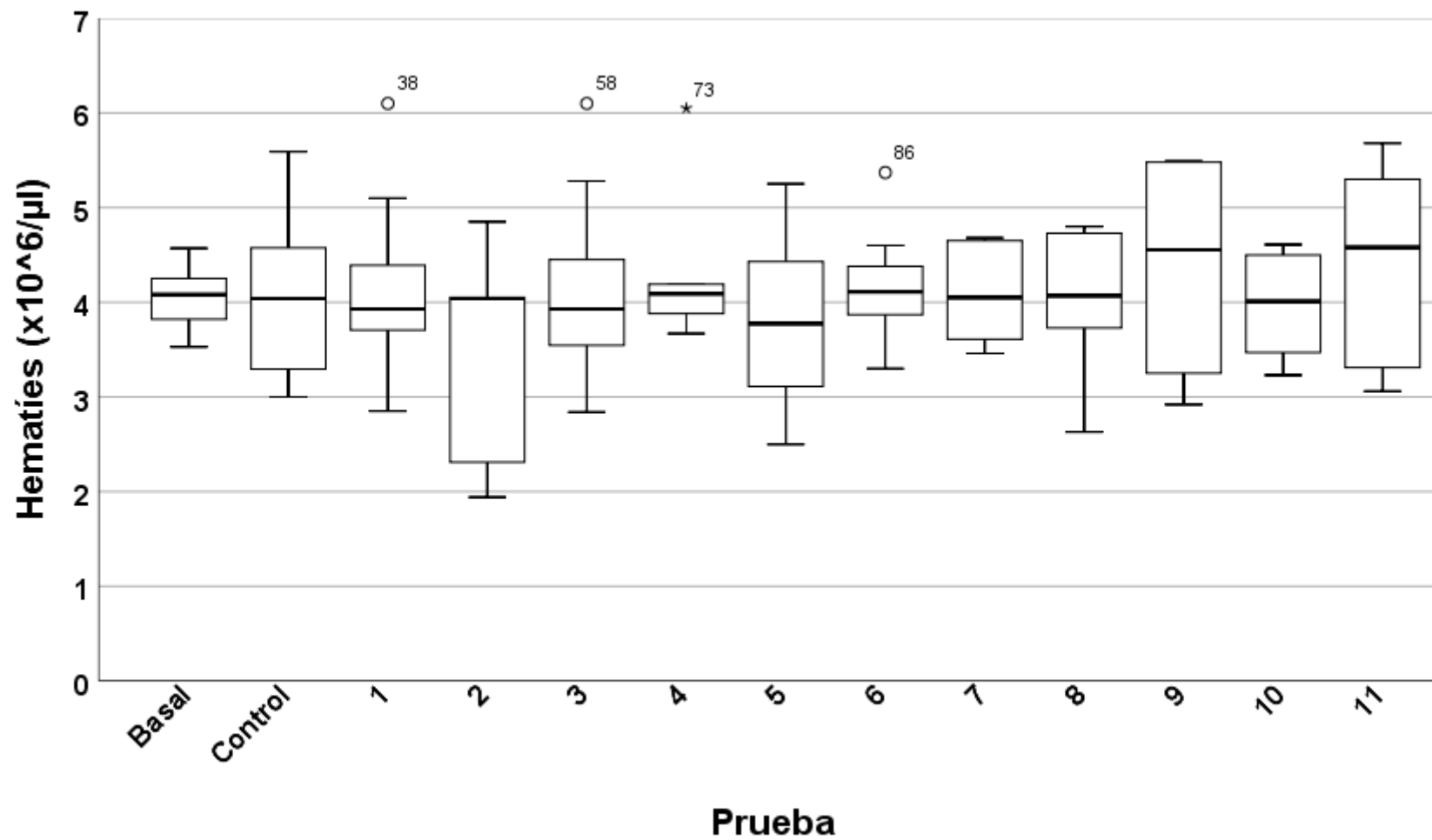


Figura 8. Diagrama de cajas del recuento de hematíes

En tercer lugar, se realizó una **prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene**: estadístico $F=2,712$ ($p=0,003$). A continuación, se realizó una **prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis para muestras independientes** para determinar si las muestras son semejantes (H_0): estadístico $H=3,819$ ($p=0,986$).

4.5. Análisis estadístico de las mediciones de leucocitos

La **Tabla 16** muestra un resumen analítico descriptivo de las mediciones de los leucocitos. Incluye: número de muestras, media, desviación estándar, error estándar de la media, intervalo de confianza del 95% y rango.

Tabla 16. Analítica descriptiva del recuento de leucocitos

Prueba	<i>n</i>	Media	DE	EEM	IC 95%	Rango
Basal	18	4,71	1,42	0,34	4,00-5,42	1,7-7,5
Control	16	4,42	1,33	0,33	3,71-5,13	2,6-7,2
1	15	4,37	1,59	0,41	3,49-5,25	2,2-7,8
2	5	3,92	1,98	0,89	1,46-6,38	1,4-6,5
3	15	4,57	1,35	0,35	3,82-5,31	2,7-7,2
4	5	4,04	0,63	0,28	3,26-4,82	3,1-4,6
5	10	4,90	1,57	0,50	3,77-6,03	3,0-7,4
6	10	4,84	1,01	0,32	4,12-5,56	2,9-6,3
7	5	4,38	1,51	0,67	2,51-6,25	3,1-6,7
8	5	4,70	2,00	0,90	2,21-7,19	3,1-8,0
9	6	4,72	1,84	0,75	2,79-6,65	2,6-8,0
10	6	4,77	1,37	0,56	3,33-6,21	2,8-7,1
11	6	4,60	1,46	0,60	3,07-6,13	2,6-7,0
Total	122	4,56	1,41	0,13	4,31-4,81	1,4-8,0

DE: desviación estándar; EEM: error estándar de la media; IC 95%: intervalo de confianza del 95%; n: número de muestras

En segundo lugar, para determinar si las muestras cumplen el supuesto de normalidad estadística- y gráficamente se realizaron una **prueba de normalidad de Shapiro-Wilk** (**Tabla 17**) y un **diagrama de cajas** (**Figura 9**) respectivamente.

Tabla 17. Leucocitos. Prueba de Shapiro-Wilk

Prueba	Estadístico	<i>n</i>	<i>p</i> -valor
Basal	0,949	18	0,414
Control	0,909	16	0,112
1	0,945	15	0,444
2	0,981	5	0,940
3	0,950	15	0,524
4	0,890	5	0,355
5	0,916	10	0,326
6	0,964	10	0,829
7	0,850	5	0,194
8	0,837	5	0,158
9	0,901	6	0,381
10	0,864	6	0,204
11	0,960	6	0,823

n: número de muestras

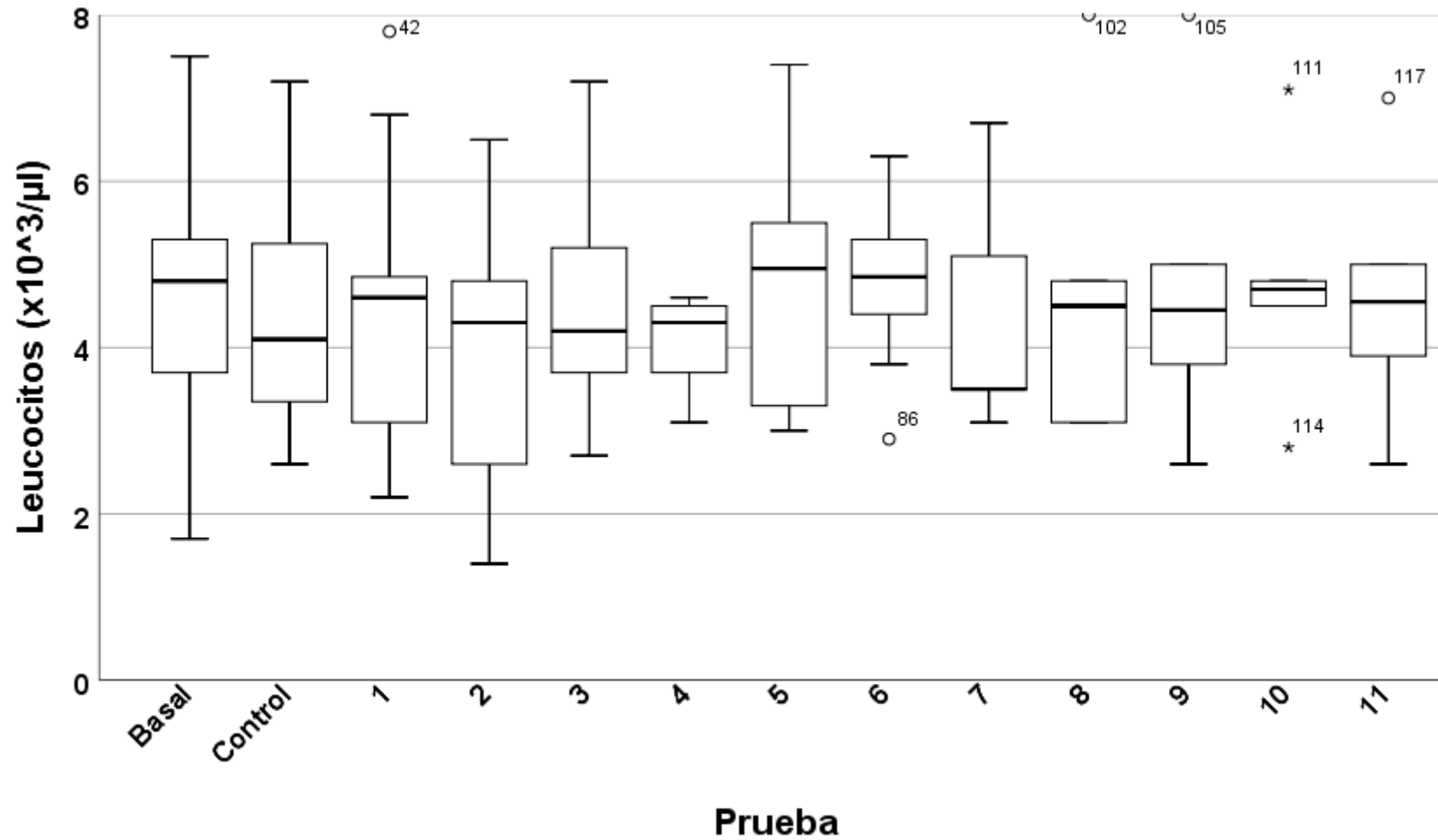


Figura 9. Diagrama de cajas del recuento de leucocitos

En tercer lugar, se realizó una **prueba de homogeneidad de varianzas o prueba de Levene**: estadístico $F=0,625$ ($p=0,817$). A continuación, se realizó un **ANOVA** para determinar si las muestras son semejantes (H_0): estadístico $F=0,235$ ($p=0,991$).

5. DISCUSIÓN

La estenosis de un stent se relaciona con diferentes factores (del paciente, del diseño del stent y de la tecnología). Dentro de los factores relacionados con el diseño del stent intervienen el material del stent, su estructura, diferentes técnicas de pulido, modificaciones de la superficie y su recubrimiento (13).

La limpieza mediante cavitación ultrasónica de los stents de nitinol ha sido propuesta para eliminar las impurezas acumuladas en la superficie del metal durante el proceso de fabricación (71) con capacidad de mejorar la trombogenicidad.

Las modificaciones de la superficie en los stents de nitinol han sido propuestas como parte del proceso de fabricación de los stents para disminuir las tasas de reestenosis al tener la capacidad de modificar la trombogenicidad en las primeras fases tras el despliegue de los stents (58, 85, 88, 89, 102, 104).

La IS con el modelo *Chandler loop* es un modelo *in vitro* propuesto y validado que permite evaluar la trombogenicidad mediante la medición de parámetros en las muestras de sangre en contacto con stents de nitinol (54, 92, 101, 102).

Debido al secreto industrial en la fabricación de stents, no hay protocolos estandarizados que traten las modificaciones de la superficie de stents de nitinol. Este trabajo podría ayudar a establecer una serie de determinadas modificaciones de la superficie para disminuir la trombogenicidad de los stents.

Para este trabajo se realizaron un total de 124 análisis muestras de sangre. En el grupo basal se realizaron 18 mediciones. En el grupo control que no tuvo contacto con stents de nitinol durante la IS se realizaron 16 mediciones (18 para complejos TAT).

No se observaron aumentos estadísticamente significativos entre el grupo basal y el grupo control en el recuento de complejos TAT, en concordancia con el análisis conjunto de los resultados de este trabajo frente a los estudios publicados.

El análisis del recuento de complejos TAT tras la IS en el modelo *Chandler loop*

muestra que los grupos 4, 6, 10 y 11 son menos trombogénicos que el resto.

En este trabajo no se observaron diferencias significativas entre el grupo basal y el grupo control en el recuento de los parámetros del hemograma (plaquetas, hematíes y leucocitos).

El análisis de los resultados de este trabajo no mostró diferencias significativas entre el grupo basal y el resto de los grupos de pruebas de muestras con combinaciones de modificaciones de la superficie en los parámetros del hemograma (plaquetas, hematíes y leucocitos) independientemente de la modificación a la que fue sometida el stent de nitinol.

En el análisis conjunto de los resultados de este trabajo frente a los estudios publicados sobre la hemocompatibilidad y trombogenicidad con el modelo *Chandler loop* en diferentes campos hay concordancia con los resultados de los trabajos revisados (81, 92, 101, 102) pero no con el trabajo de Krajewski et al (54) en el recuento de leucocitos y plaquetas. Creemos que pudiera deberse a la variabilidad de estos parámetros en el ser humano.

5.1. Recuento de complejos trombina-antitrombina (TAT)

El recuento de complejos TAT entre el grupo basal, el grupo control y el resto de los grupos de pruebas mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,000$).

En este trabajo el recuento de complejos TAT mostró valores elevados en todos los grupos de pruebas independientemente de la exposición al nitinol o de la modificación de la superficie a la que se fue sometido el nitinol en comparación con el grupo basal. Sin embargo, el análisis post hoc de comparación de Dunnett:

- No encontró diferencias significativas entre el grupo basal ($15,79\pm 23,01$ $\mu\text{g/L}$) y el grupo de control ($20,97\pm 23,03$ $\mu\text{g/L}$) ($p=1,000$).
- No encontró diferencias significativas entre el grupo basal ($15,79\pm 23,01$ $\mu\text{g/L}$) y el grupo 4 ($37,89\pm 38,92$) que no tuvo contacto con un stent de nitinol ($p=1,000$).
- No encontró diferencias significativas entre el grupo basal ($15,79\pm 23,01$ $\mu\text{g/L}$) y el grupo 6 ($108,81\pm 70,93$ $\mu\text{g/L}$) ($p=0,048$).
- No encontró diferencias significativas entre el grupo basal ($15,79\pm 23,01$ $\mu\text{g/L}$) y

el grupo 10 ($46,82 \pm 36,92 \mu\text{g/L}$) ($p=0,996$).

- No encontró diferencias significativas entre el grupo basal ($15,79 \pm 23,01 \mu\text{g/L}$) y el grupo 11 ($42,26 \pm 20,36 \mu\text{g/L}$) ($p=0,999$).

El análisis estadístico mostró variabilidad en las diferencias observadas con el grupo basal tras la IS. La **Figura 10** muestra gráficamente el recuento medio de complejos TAT de todos los grupos de pruebas.

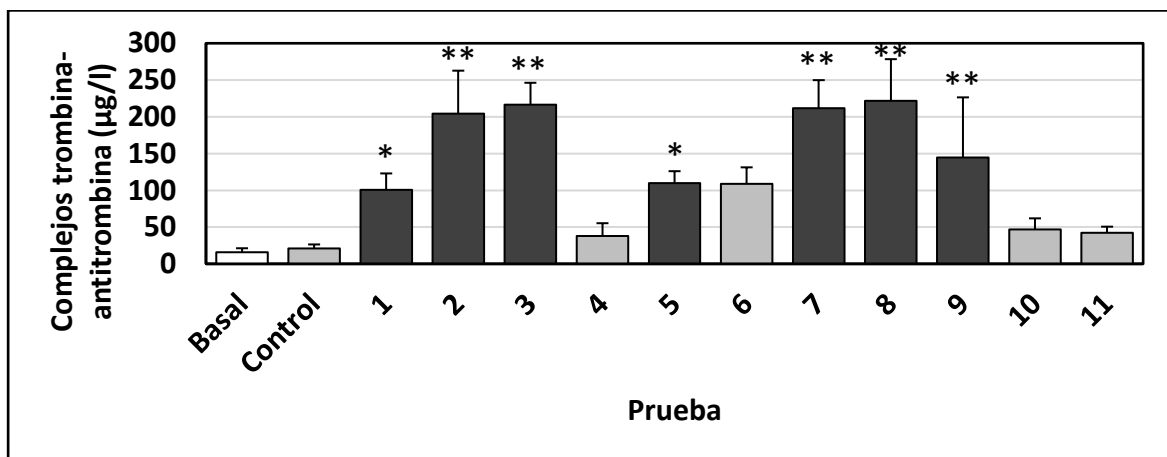


Figura 10. Recuento de complejos TAT.

Basal; Control (IS); 1 (S+US+PT3+IS); 2 (S+US-SL1+IS); 3 (S+US-SL2+IS); 4 (SL1+IS); 5 (S+US-SL2+PT1+IS); 6 (S+US-SL2+PT2+IS); 7 (S+US-SL2+PT3+IS); 8 (S+US-SL2- \emptyset Et+IS); 9 (S+US-SL2+3S(Falcon)+IS); 10 (S+US-SL2+PT1+3S(Falcon)+IS); 11 (S+US-SL2+PT4+3S(Falcon)+IS)

*Resultado estadísticamente significativo ($p < 0,05$);

**Resultado estadísticamente muy significativo ($p < 0,01$).

\emptyset Et: no etanol; 3S: almacenamiento durante 3 semanas; IS: incubación en sangre; S: stent de nitinol; PT1: postratamiento 1 (HNO_3); PT2: postratamiento 2 (autoclave); PT3: postratamiento 3 (Ampuwa); PT4: postratamiento 4 (H_2O_2); SL1: solución de limpieza 1 (Deconex HAT 1169 al 3%); SL2: solución de limpieza 2 (TICKOPUR TR 13 al 1%); US: baño ultrasónico o cavitación.

El análisis de los resultados de las pruebas mencionadas identificó combinaciones de modificaciones químicas de la superficie que se relacionaron con una mayor trombogenicidad:

- Todos los grupos fueron sometidos a baño ultrasónico o cavitación (US).
- La cavitación (US) en el grupo 1 fue realizada sin añadir ninguna solución de limpieza (SL) y se realizó un postratamiento mediante ebullición en Ampuwa previo a la IS en el modelo *Chandler loop*.
- Los stents de nitinol de los grupos 2, 3, 8 y 9 fueron únicamente sometidos a

cavitación (US) con una solución de limpieza (SL1 (Deconex HAT 1169 al 3%) o SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%)) y no fueron sometidos a ningún postratamiento antes de la IS en el modelo *Chandler loop*.

- Los stents de nitinol del grupo 8 no fueron limpiados con etanol tras el proceso de cavitación (US) ni sometidos a un postratamiento antes de la IS en el modelo *Chandler loop*.

La **Figura 11** muestra gráficamente el recuento medio de complejos TAT de los grupos de pruebas con elevaciones estadísticamente significativas en comparación con el grupo basal.

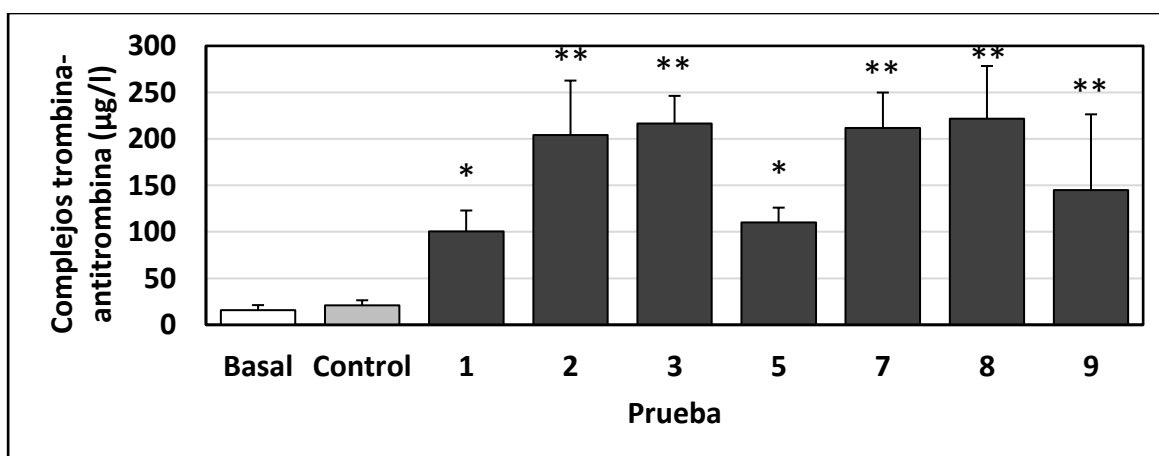


Figura 11. Recuento de complejos TAT con diferencias significativas ($p < 0,05$).

Basal; Control (IS); 1 (S+US+PT3+IS); 2 (S+US-SL1+IS); 3 (S+US-SL2+IS); 5 (S+US-SL2+PT1+IS); 7 (S+US-SL2+PT3+IS); 8 (S+US-SL2-∅Et+IS); 9 (S+US-SL2+3S(Falcon)+IS)

*Resultado estadísticamente significativo ($p < 0,05$);

**Resultado estadísticamente muy significativo ($p < 0,01$).

∅Et: no etanol; 3S: almacenamiento durante 3 semanas; IS: incubación en sangre; S: stent de nitinol; PT1: postratamiento 1 (HNO₃); PT3: postratamiento 3 (Ampuwa); SL1: solución de limpieza 1 (Deconex HAT 1169 al 3%); SL2: solución de limpieza 2 (TICKOPUR TR 13 al 1%); US: baño ultrasónico o cavitación.

El análisis de los resultados de las pruebas mencionadas identificó combinaciones de modificaciones químicas de la superficie que se relacionaron con una menor trombogenicidad:

- Todos los grupos fueron sometidos a baño ultrasónico o cavitación (US) con SL1 (Deconex HAT 1169 al 3%) o con SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%).
- El grupo 4 ($p=1,000$) no tuvo contacto con stents de nitinol durante la IS al representar únicamente muestras de sangre a las que se añadieron 10µl de SL1

(Deconex HAT 1169 al 3%) a la muestra de sangre antes de la IS en el modelo *Chandler loop*.

- El grupo 6 ($p=0,052$) presentó valores ($108,81\pm 70,93$ $\mu\text{g/L}$) cercanos ($109,98\pm 50,78$ $\mu\text{g/L}$) a los del grupo 5 ($p=0,048$), que sí mostró un aumento estadísticamente significativo de la trombogenicidad. Ambos grupos fueron sometidos a un proceso de cavitación (US) con SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%) aunque con diferentes postratamientos (PT1 (pasivación con ácido nítrico (HNO_3)) o PT2 (autoclave) respectivamente antes de la IS en el modelo *Chandler loop*.
- Los grupos 10 ($p=0,996$) y 11 ($p=0,999$) son los que presentaron una menor trombogenicidad mostrando el menor aumento en el recuento de complejos TAT con valores $46,82\pm 36,92$ $\mu\text{g/L}$ y $42,26\pm 20,36$ $\mu\text{g/L}$ respectivamente. Ambos grupos fueron sometidos a cavitación (US) con SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%) y posteriormente fueron sometidos a un postratamiento con PT1 (pasivación con ácido nítrico (HNO_3)) y PT4 (pasivación con peróxido de hidrógeno (H_2O_2)) respectivamente. En ambos grupos los stents de nitinol fueron almacenados durante 3 semanas en Falcon antes de la IS en el modelo *Chandler loop*.

La **Figura 12** muestra gráficamente el recuento medio de complejos TAT de los grupos de pruebas sin elevaciones estadísticamente significativas en comparación con el grupo basal.

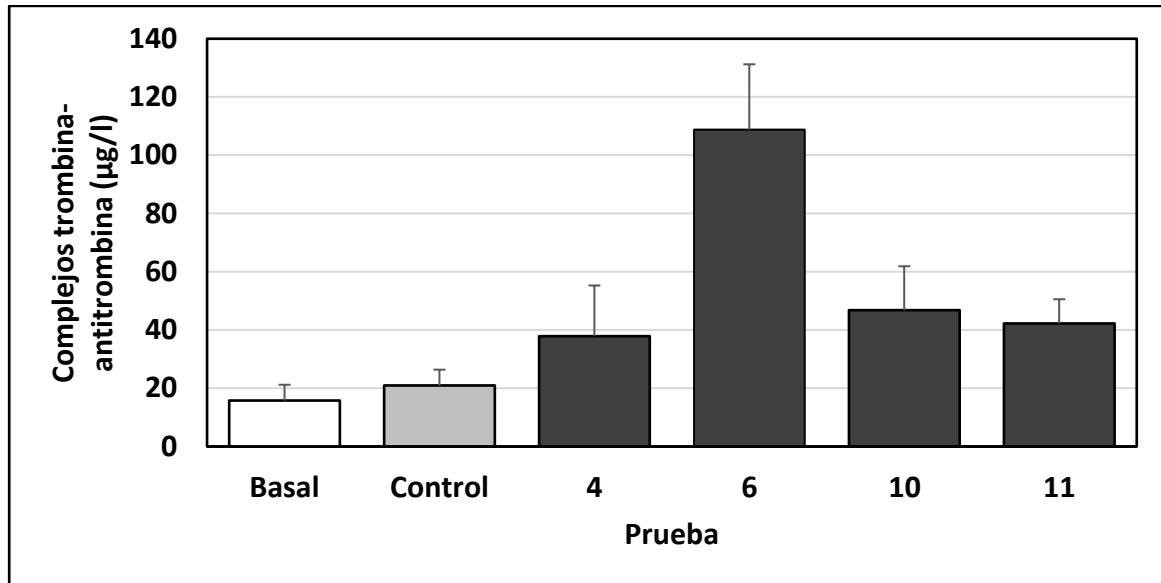


Figura 12. Recuento de complejos TAT sin diferencias significativas ($p > 0,05$).

Basal; 4 (SL1+IS); Control (IS); 4 (SL1+IS); 6 (S+US-SL2+PT2+IS);

10 (S+US-SL2+PT1+3S(Falcon)+IS); 11 (S+US-SL2+PT4+3S(Falcon)+IS)

3S: almacenamiento durante 3 semanas; IS: incubación en sangre; S: stent de nitinol;

PT1: postratamiento 1 (HNO_3); PT2: postratamiento 2 (autoclave);

PT4: postratamiento 4 (H_2O_2); SL1: solución de limpieza 1 (Deconex HAT 1169 al 3%);

SL2: solución de limpieza 2 (TICKOPUR TR 13 al 1%);

US: baño ultrasónico o cavitación.

Analizando y comparando las diferencias en los aspectos metodológicos de los diferentes grupos de muestras en el recuento de complejos TAT podríamos afirmar que:

- El proceso de cavitación (US) no afecta significativamente a la trombogenicidad:
 - Los stents del grupo 1 fueron sometidos a US sin una SL.
 - Los grupos 2, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10 y 11 fueron sometidos a US con SL1 (Deconex HAT 1169 al 3%) o con SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%) independientemente de que el aumento en el recuento de complejos TAT fuera estadísticamente significativo o no.
- El recuento medio de complejos TAT de los grupos 5 ($109,98 \pm 50,78 \mu\text{g/L}$) y 6 ($108,81 \pm 70,93 \mu\text{g/L}$) es semejante y aunque tienen diferente significación estadística ($p=0,048$ y $p=0,052$ respectivamente) podría sugerir una trombogenicidad semejante. Ambos grupos fueron sometidos a un proceso de cavitación (US) con SL2 (TICKOPUR TR 13 al 1%) y los diferentes postratamientos (PT1 (pasivación con ácido nítrico (HNO_3) o PT2 (autoclave) antes de la IS en el modelo *Chandler loop* parecen no influir cuantitativamente

en la trombogenicidad.

- La menor elevación de complejos TAT y el menor potencial trombogénico obtenido encontrado fue en los grupos 10 y 11:
 - Ambos fueron sometidos a un postratamiento con PT1 (pasivación con ácido nítrico (HNO₃)) y PT4 (pasivación con peróxido de hidrógeno (H₂O₂)) respectivamente.
 - Tuvieron como elemento diferenciador con el resto de los grupos analizados el almacenaje 3 semanas en Falcon que podría ser relevante.

Tepe et al. (101) estudiaron la trombogenicidad de diferentes tipos de stents de nitinol y acero en un sistema *Chandler loop* tras IS. Observaron que en todos los casos aumento en los niveles de complejos TAT:

- En concordancia con este trabajo no encontraron diferencias significativas entre el grupo basal y el grupo control (31 ± 20 µg/mL).
- Encontraron una elevación en el recuento de complejos TAT en comparación con el grupo basal en el resto de los grupos con stents de nitinol. De menor a mayor fueron: stent SMART (569 ± 347 µg/mL), stent SelfX pulido (3.128 ± 1.812 µg/mL) y stent SelfX sin pulir 5.897 ± 2.380 µg/mL, en los dos últimos grupos de manera significativa.

Concluyeron que el electropulido reducía claramente la trombogenicidad de los stents y que debido a la variabilidad observada dentro de los diferentes grupos de stent analizados se debieran utilizar stents del mismo material y diseño para aclarar la influencia específica de los diferentes factores que modifican la trombogenicidad.

Tepe et al. (102) también analizaron también stents de nitinol con diferentes modificaciones de la superficie y recubrimientos tras IS (pulido mecánico, pasivación, arenado, electropulido, recubiertos con heparina, aluminio y polímero de poliuretano simple y adicional). En comparación con el grupo basal encontraron en todos los grupos de stents un aumento en el recuento de complejos TAT:

- En concordancia con este trabajo no encontraron diferencias significativas entre el grupo basal (6 ± 3 µg/L) y el grupo control (24 ± 15 µg/L).
- Según el tipo de modificación de la superficie: arenado (451 ± 413 µg/L),

electropulido ($1.032 \pm 582 \mu\text{g/L}$), pasivación ($2.556 \pm 1.634 \mu\text{g/L}$), pulido mecánico ($2.600 \pm 2.201 \mu\text{g/L}$).

- Según el tipo de recubrimiento: PU simple ($106 \pm 195 \mu\text{g/L}$), PU adicional ($194 \pm 191 \mu\text{g/L}$), aluminio ($275 \pm 213 \mu\text{g/L}$) y heparina ($2.113 \pm 1.207 \mu\text{g/L}$).

El menor aumento fue en el grupo de stents de nitinol con recubrimiento de PU simple y el mayor en los sometidos a pulido mecánico.

Schmehl et al. (81) en su estudio con stents de nitinol con recubrimiento con carburo de silicio tras IS en un modelo *Chandler loop* encontraron elevación en el recuento de complejos TAT en el grupo de stents sin recubrir:

- En concordancia con este trabajo no encontraron diferencias significativas entre el grupo basal ($15,0 \pm 8,4 \mu\text{g/l}$) y el grupo control ($10,3 \pm 5,4 \mu\text{g/l}$).
- Encontraron resultados similares entre el grupo basal ($15,0 \pm 8,4 \mu\text{g/l}$) y el grupo de stents recubiertos con carburo de silicio ($16,0 \pm 19,1 \mu\text{g/l}$).
- Observaron un aumento significativo entre el grupo basal ($15,0 \pm 8,4 \mu\text{g/l}$) y el grupo de stents de nitinol sin recubrir ($458,3 \pm 761,0 \mu\text{g/l}$).

Sinn et al. (92) en su estudio de hemocompatibilidad de stents coronarios (BMS, stent recubierto Parlyne C y stent de cobre recubierto con polímero) según la normativa ISO 10993-4 analizaron los niveles de complejos TAT tras IS en diferentes grupos de stents en un modelo *Chandler loop* encontraron elevación en el recuento de complejos TAT en todos los grupos:

- En concordancia con este trabajo no encontraron diferencias significativas entre el grupo basal ($3,33 \pm 1,5 \mu\text{g/l}$) y el grupo control ($6,70 \pm 2,22 \mu\text{g/l}$).
- Encontraron un aumento en el recuento de complejos TAT en todos los grupos: stent recubierto Parlyne C ($7,48 \pm 2,09 \mu\text{g/l}$), BMS ($19,88 \pm 6,93 \mu\text{g/l}$) y stent de cobre recubierto ($723 \pm 244,75 \mu\text{g/l}$), estos dos últimos significativos.

Krajewski et al. (54) en su estudio con nanopartículas de plata en un modelo *Chandler loop*, en concordancia con este trabajo, no encontraron diferencias significativas en el recuento de complejos TAT entre el grupo basal y el grupo control.

La **Tabla 18** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de complejos TAT entre el grupo basal y grupo control de este trabajo junto con los estudios analizados.

Tabla 18. Diferencias en el recuento de complejos TAT entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Resultados	P
Este trabajo	No diferencias	$p=1,000$
Tepe et al. (101)	No diferencias	$p>0,05$
Tepe et al. (102)	No diferencias	$p>0,05$
Schmehl et al. (81)	No diferencias	$p>0,05$
Sinn et al. (92)	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	No diferencias	$p>0,05$

Creemos que sería necesario realizar estudios complementarios con indicadores de la activación plaquetaria: β -TG, selectina P y anticuerpos PAC-1.

5.2. Recuento de plaquetas

El recuento de plaquetas entre el grupo basal, el grupo control y el resto de los grupos de pruebas no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,718$) independientemente de la modificación de la superficie a la que fueron sometidos los stents.

Tepe et al. (101) evaluaron en el 2002 la trombogenicidad de stents de acero y nitinol tras la IS. Dentro del grupo de stents de nitinol compararon el recuento de plaquetas entre un grupo basal con un grupo control tras la IS, un grupo de stents de nitinol sin pulir y un grupo de stents de nitinol pulidos ($n=7$ cada grupo):

- Al igual que en este trabajo no observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal y el grupo control ($218\pm35 \times 1.000/\mu\text{l}$).
- Encontraron una disminución entre el grupo basal y todos los grupos de stents de nitinol comparados. El descenso fue estadísticamente significativo en los grupos con stents de nitinol SelfX (Jomed, Rangendingen, Alemania) independientemente de que estuvieran pulidos ($123\pm37 \times 1.000/\mu\text{l}$) o no (52 ± 27

x1.000/ μ l), aunque fue menor el descenso en el grupo de stents SelfX pulidos. No encontraron un descenso significativo en el grupo de stents de nitinol SMART (Cordis, Miami, FL) (180 ± 36 x1.000/ μ l).

Completaron su estudio mediante la determinación de β -TG como marcador de la activación plaquetaria en los distintos grupos de pruebas, encontrando una elevación en las mediciones entre el grupo basal y control (137 ± 88 UI/mL a 950 ± 536 UI/mL) y todos los grupos de stents comparados (hasta 5.419 ± 938 UI/mL). De igual manera que en el recuento de plaquetas:

- No observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal y el grupo control.
- Encontraron un aumento entre el grupo basal y todos los grupos de stents de nitinol comparados. Encontraron un aumento estadísticamente significativo entre el grupo basal y los grupos de muestras en contacto con stents de nitinol SelfX independientemente de que estuvieran pulidos siendo menor el aumento observado con el grupo de stents SelfX pulidos. No observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal y el grupo de stents de nitinol SMART.

Su estudio estandarizado les permitió concluir que tras el implante de un stent se observa una activación plaquetaria amplia y que el electropulido reduce la trombogenicidad de los stents al proporcionar una superficie más lisa que altera las características electrostáticas y químicas. Sin embargo, concluyeron que independientemente del pulido del stent, el propio diseño del stent puede resultar en una menor trombosis por lo que apuntan al análisis de trombogenicidad entre grupos idénticos de stents con una única variable diferente para establecer la influencia específica de este factor en la trombogenicidad

Tepe et al. (102), en otro trabajo, analizaron la trombogenicidad en stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie y recubrimientos tras IS (pulido mecánico, pasivación, arenado, electropulido, recubiertos con heparina, aluminio y polímero de poliuretano simple y adicional). Observaron en todos los grupos de pruebas un descenso en el recuento de plaquetas y en concordancia con

este trabajo, la comparación entre el grupo basal y el grupo control y el resto de los grupos de stents de nitinol no mostró diferencias estadísticamente significativas ($227\pm 50 \times 1.000/\mu\text{l}$ y $227\pm 45 \times 1.000/\mu\text{l}$ respectivamente). En su análisis observaron superioridad del arenado y del electropulido ($187\pm 46 \times 1.000/\mu\text{l}$) frente al pulido mecánico ($135\pm 68 \times 1.000/\mu\text{l}$) y la pasivación ($132\pm 68 \times 1.000/\mu\text{l}$) dentro de las modificaciones de la superficie. De los grupos de stents de nitinol con recubrimiento, el recubierto con poliuretano fue superior al resto ($218\pm 45 \times 1.000/\mu\text{l}$) con el menor descenso respecto al grupo basal.

Analizaron paralelamente la trombogenicidad mediante la determinación de β -TG en los distintos grupos de pruebas en relación con la activación de las plaquetas. Hallaron un ascenso en todos los grupos de pruebas en comparación con el grupo basal. Encontraron una elevación de aproximadamente 10 veces en los valores observados entre el grupo basal ($70\pm 37 \text{ UI/ml}$) y el grupo control ($755\pm 263 \text{ UI/ml}$) considerándolo un parámetro muy sensible. Dentro de los grupos de pruebas con muestras de sangre en contacto con stent en la IS observaron valores variables: grupo de stent con recubrimiento de PU $1.212\pm 615 \text{ UI/ml}$ hasta $3.563\pm 919 \text{ UI/ml}$ en el grupo con stent sometido a pasivación sugiriendo una trombogenicidad diferente.

Concluyeron que las modificaciones de la superficie podrían no ser relevantes a la hora de disminuir la trombogenicidad (pasivación) o producir una reducción leve (electropulido y arenado); de igual manera los recubrimientos de stent analizados pueden no ser relevantes (recubrimiento de heparina), producir una reducción leve de la trombogenicidad (recubrimiento cerámico) y un efecto beneficioso (recubrimiento de PU).

Schmehl et al. (81) publicaron en el 2007 un trabajo en el que compararon el recuento de plaquetas en su estudio de la trombogenicidad en stent desnudo y stent recubierto de carburo de silicio tras la IS:

- Al igual que este trabajo no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal ($223,8\pm 39,8 \times 1.000/\mu\text{l}$) y el grupo control ($226,3\pm 34,9 \times 1.000/\mu\text{l}$).
- Encontraron un descenso en el recuento entre el grupo basal y los grupos con

stent de nitinol independientemente de su recubrimiento. El descenso fue estadísticamente significativo en el grupo en contacto con stent de nitinol desnudo ($178,9 \pm 47,3 \times 1.000/\mu\text{l}$), pero no con el grupo de stent de nitinol recubierto con carburo de silicio ($205,7 \pm 27,5 \times 1.000/\mu\text{l}$).

Completaron su trabajo mediante la determinación de β -TG como marcador de la activación plaquetaria en los distintos grupos:

- No encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal ($110,6 \pm 69,6 \text{ UI/ml}$) y el grupo control ($291,9 \pm 234,7 \text{ UI/ml}$).
- Encontraron un aumento en el recuento entre el grupo basal y los grupos con stent de nitinol independientemente de su recubrimiento. El aumento fue estadísticamente significativo entre el grupo basal y el grupo en contacto con stent de nitinol desnudo tras la IS ($2.189,1 \pm 898,9 \text{ UI/ml}$), pero no con el grupo de stent de nitinol recubierto con carburo de silicio ($484,0 \pm 180,2 \text{ UI/ml}$).

Concluyeron que el stent de nitinol recubierto con carburo de silicio era menos trombogénico que el stent de nitinol desnudo.

Sinn et al. (92) en concordancia con este trabajo no encontraron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de plaquetas tras la IS entre el grupo basal y el grupo control. De igual manera tampoco encontraron diferencias al comparar el recuento con los grupos con stents (BMS, stent recubierto Parlyne C y stent de cobre recubierto con polímero). Su análisis complementario de la activación plaquetaria mediante la determinación de la β -TG y la expresión de selectina P en la superficie plaquetaria no mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo basal ($76 \pm 40,49 \text{ UI/ml}$ y $30,30 \pm 5,75 \text{ ng/ml}$ respectivamente) y el grupo control ($241,53 \pm 59,2 \text{ UI/ml}$ y $34,77 \pm 6,83 \text{ ng/ml}$ respectivamente), aunque encontraron una elevación en todos los grupos de pruebas.

Krajewski et al. (54) en su estudio sobre nanopartículas de plata con un modelo *Chandler loop* encontraron, a diferencia de este trabajo, un descenso estadísticamente significativo en el recuento de plaquetas entre el grupo basal y el grupo de control tras la IS. El análisis complementario de la activación plaquetaria

mediante la determinación de la β -TG y la expresión de selectina P en la superficie plaquetaria no mostró diferencias estadísticamente significativas y el análisis de la alteración plaquetaria mediante la determinación de la unión del anticuerpo monoclonal PAC-1 contra GPIIb/IIIa activado en las plaquetas y la formación de agregados plaquetarios fue dispar:

- PAC-1 con elevación estadísticamente significativa.
- Formación de agregados plaquetarios sin diferencias estadísticamente significativas.

La **Tabla 19** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de plaquetas entre el grupo basal y grupo control de este trabajo junto con los estudios analizados.

Tabla 19. Diferencias en el recuento de plaquetas entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Resultados	P
Este trabajo	No diferencias	$p=0,718$
Tepe et al. (101)	No diferencias	$p>0,05$
Tepe et al. (102)	No diferencias	$p>0,05$
Schmehl et al. (81)	No diferencias	$p>0,05$
Sinn et al. (92)	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	Diferencias	$p<0,05$

La **Tabla 20** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de marcadores de la activación plaquetaria entre el grupo basal y grupo control de los estudios analizados.

Tabla 20. Diferencias en el recuento de marcadores de la activación plaquetaria entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Análisis	Resultados	P
Tepe et al. (101)	β -TG	No diferencias	$p>0,05$
Tepe et al. (102)	β-TG	Diferencias	$p<0,05$
Schmehl et al. (81)	β -TG	No diferencias	$p>0,05$
Sinn et al. (92)	β -TG, selectina P	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	β -TG, selectina P, ag. plaquetarios	No diferencias	$p>0,05$
	Anticuerpos PAC-1	Diferencias	$p<0,05$

El trabajo realizado no ha añadido información nueva en el recuento de plaquetas como parte del estudio de la trombogenicidad. Sin embargo, los resultados obtenidos refuerzan la validez de estudios anteriores al presentar datos similares. La ampliación de estudios con marcadores de la activación plaquetaria no parece aportar información adicional relevante (β -TG, selectina P y agregados plaquetarios).

5.3. Recuento de hematíes

En este trabajo el análisis del recuento de hematíes no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,986$) entre el grupo basal, el grupo control y el resto de los grupos de pruebas independientemente de la modificación de la superficie a la que fueron sometidos los stents.

En concordancia con de este trabajo, Sinn et al. (92) no hallaron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de hematíes tras la IS entre el grupo basal, el grupo control y los grupos de stents comparados (BMS, stent recubierto Parlyne C y stent de cobre recubierto con polímero) en evaluación de la viabilidad del modelo de *Chandler loop* para la realización de pruebas de hemocompatibilidad con stents. Concluyeron que el modelo permite la estandarización de las condiciones de la prueba y la comparación de datos de diferentes tipos de stents.

Krajewski et al. (54) en el año 2013 tampoco encontraron diferencias estadísticamente significativas en el recuento de hematíes tras la IS en un modelo

Chandler loop entre el recuento basal de hematíes y el grupo control en su trabajo sobre la hemocompatibilidad de las nanopartículas de plata en sangre total. De manera complementaria hicieron una determinación de hemoglobina libre como marcador de hemólisis sin que encontraran diferencias estadísticamente significativas.

La **Tabla 21** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de hematíes entre el grupo basal y grupo control de este trabajo junto con los estudios analizados.

Tabla 21. Diferencias en el recuento de hematíes entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Resultados	P
Este trabajo	No diferencias	$p=0,986$
Sinn et al. (92)	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	No diferencias	$p>0,05$

El trabajo realizado no ha aportado información adicional significativa sobre lo ya estudiado previamente en el recuento de hematíes. Sin embargo, los resultados obtenidos en este trabajo refuerzan la validez de las investigaciones anteriores al presentar datos semejantes. La consistencia en los hallazgos proporciona una mayor confianza en la fiabilidad de las metodologías empleadas y en la precisión de las conclusiones extraídas en estudios previos. Esta coincidencia en los resultados subraya la robustez del marco teórico y experimental existente, consolidando así el conocimiento actual en el ámbito del recuento de hematíes y su relevancia clínica.

Los mecanismos de la hemólisis inducida por nitinol se relacionan con el daño mecánico al paso de los hematíes por los dispositivos implantados, la activación del complemento, la liberación de iones de Ni desde la superficie que dañan las membranas celulares y las reacciones alérgicas mediadas por anticuerpos. Como se mencionó anteriormente las propiedades del implante, los factores relacionados con el paciente y tratamientos anticoagulantes pueden aumentar la hemólisis durante y después de la implantación.

5.4. Recuento de leucocitos

En este trabajo el recuento de leucocitos no mostró diferencias estadísticamente significativas ($p=0,991$) entre el grupo basal, el grupo control y el resto de los grupos de pruebas independientemente de la modificación de la superficie a la que fueron sometidos los stents.

Sinn et al. (92) en el año 2011 no encontraron diferencias estadísticamente significativas tras la IS en el recuento de leucocitos entre el grupo basal, el grupo control y los grupos de stents comparados (BMS, stent recubierto Parlyne C y stent de cobre recubierto con polímero) en su evaluación de la viabilidad del modelo de *Chandler loop* para la realización de pruebas de hemocompatibilidad con stents. Mencionar que completaron el estudio con la determinación de marcadores de la activación inflamatoria mediante el análisis de la activación de los leucocitos (elastasa-PMN) y del complemento (SC5b) que si bien mostraron un aumento en el recuento no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre el recuento basal y el grupo control, aunque aumentó en los grupos de stents. Concluyeron que el stent induce respuestas proinflamatorias en las etapas iniciales de la colocación de un stent que en combinación con las respuestas trombogénicas pueden conducir a la oclusión del stent siendo necesario minimizar tanto la coagulación como la inflamación y por lo tanto deben ser evaluados de manera independiente.

Krajewski et al. (54) en su análisis del recuento de leucocitos en su trabajo sobre la hemocompatibilidad de las nanopartículas de plata en sangre total hallaron sin embargo una disminución muy significativa en el recuento de leucocitos ($p<0,001$) entre el grupo basal y el grupo control tras la IS en el modelo *Chandler loop*. Ampliaron su análisis con un estudio de la activación leucocitaria mediante la determinación de la expresión de CD11b en granulocitos, monocitos y linfocitos, de la elastasa-PMN y de la activación del sistema del complemento (SC5b) sin que se modificaran significativamente en consonancia con el trabajo mencionado anteriormente de Sinn et al. (92).

La **Tabla 22** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de leucocitos entre el grupo basal y grupo control de este trabajo junto con los estudios

analizados.

Tabla 22. Diferencias en el recuento de leucocitos entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Resultados	P
Este trabajo	No diferencias	$p=0,991$
Sinn et al. (92)	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	Diferencias	$p<0,001^*$

Tepe et al. (102) estudiaron en el 2005 la trombogenicidad en stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie y recubrimientos (pulido mecánico, pasivación, arenado, electropulido, recubiertos con heparina, aluminio, polímero de poliuretano simple y adicional) tras la IS determinaron los niveles de elastasa-PMN como indicador de la reacción inflamatoria de la sangre al contacto con los stents, aunque no determinaron el nivel de leucocitos. Encontraron en comparación con el grupo basal una elevación en los niveles de elastasa-PMN en todos los grupos de pruebas con bajas desviaciones estándar (125 ± 30 $\mu\text{g/l}$ (recubrimiento de poliuretano simple) y 161 ± 53 $\mu\text{g/l}$ (heparina)), encontrando únicamente diferencias significativas entre el grupo basal y el grupo de stents con recubrimiento de poliuretano adicional (234 ± 91 $\mu\text{g/l}$) relacionando la reacción inflamatoria a la adhesión a la superficie del stent de las primeras células tras la implantación.

Schmehl et al. (81) en 2007 en su análisis de la trombogenicidad en stents de nitinol con recubrimiento con carburo de silicio tras la IS en el modelo *Chandler loop* compararon los niveles de elastasa-PMN entre el grupo basal, el de control, el de stents de nitinol sin recubrir y los recubiertos con carburo de silicio y al igual que el trabajo mencionado anteriormente no hicieron recuento de los leucocitos. En comparación con el grupo basal ($30,4\pm 7,4$ $\mu\text{g/l}$) encontraron una elevación con el grupo control ($73,7\pm 44,3$ $\mu\text{g/l}$) y con el grupo de stents de nitinol sin recubrir ($117,7\pm 62,4$ $\mu\text{g/l}$) que no fueron significativas y una elevación significativa el grupo de stents recubiertos con carburo de silicio ($152\pm 59,1$ $\mu\text{g/l}$) a pesar de lo cual concluyeron una ventaja sobre el resto de los stents recubiertos con carburo de silicio. Achacaron unos niveles más altos de elastasa-PMN a que se desencadena

una respuesta inflamatoria en la sangre en contacto con el stent y achacaron una menor elevación en el grupo de los stents de nitinol sin recubrir a una mejor biocompatibilidad.

La **Tabla 23** muestra un resumen de las diferencias en el análisis del recuento de parámetros de la activación leucocitaria o reacción inflamatoria entre el grupo basal y grupo control de los estudios analizados.

Tabla 23. Diferencias en el análisis de activación inflamatoria de leucocitos entre los grupos basal y control en el modelo *Chandler loop*

Estudio	Análisis	Resultados	P
Sinn et al. (92)	Elastasa-PMN, SC5b	No diferencias	$p>0,05$
Krajewski et al. (54)	Elastasa-PMN, SC5b, CD11b	No diferencias	$p>0,05$
Tepe et al. (102)	Elastasa-PMN	No diferencias	$p>0,05$
Schmehl et al. (81)	Elastasa-PMN	No diferencias	$p>0,05$

La diferencia en el recuento de leucocitos entre el grupo basal y el grupo de control entre este trabajo y el estudio de Krajewski et al (92) puede deberse a la variabilidad en el recuento de leucocitos ya que todos los parámetros complementarios analizados para estudio de la activación inflamatoria entre el resto de los estudios comparados (54, 81, 92, 104) muestran elevaciones no significativas.

Ninguno de los trabajos revisados que analizan y comparan la activación inflamatoria realizaron mediciones de proteínas de fase aguda (PCR o VSG) ni de citocinas proinflamatorias (por ejemplo, IL-6).

La biocompatibilidad del nitinol es conocida. La respuesta leucocitaria al entrar en contacto con las superficies de nitinol es una respuesta compleja en la que interviene la adhesión y activación de los leucocitos, particularmente los granulocitos o neutrófilos y los monocitos contribuyendo a la inflamación intimal, al rechazo del implante y en última instancia a la reestenosis. Las propiedades de la superficie (topografía, química y rugosidad) afectan a la adhesión, la activación y a

la respuesta inflamatoria. Las modificaciones de la superficie se emplean para adaptar las superficies de nitinol, reduciendo la adhesión y activación de los leucocitos. La disminución en la liberación de iones de Ni disminuye la activación de los leucocitos (35, 107).

5.5. Limitaciones

Este trabajo de investigación presenta las siguientes limitaciones:

- Los estudios de hemocompatibilidad y de trombogenicidad en stents están sujetas a secreto industrial limitándose la publicación de trabajos al respecto y el conocimiento del efecto de las modificaciones de la superficie en la trombogenicidad de diferentes stents y materiales.
- No analiza la influencia del diseño del stent en la trombogenicidad (tamaño del anillo, distancia entre anillos, anchura y grosor del strut ni radio de la corona).
- No estudia la trombogenicidad en stents liberadores de medicamentos o recubiertos (heparina, polímeros) u otro tipo de materiales biodegradables.
- Las pruebas en el modelo *Chandler loop* están realizadas por un tiempo limitado de 1 hora, se desconocen la importancia de realizar IS durante más tiempo.
- El modelo *Chandler loop* no permite analizar el efecto de los antiagregantes plaquetarios en la trombogenicidad que intervienen de una manera importante en una menor tasa de reestenosis.
- El estudio de la adhesión y activación plaquetaria está limitado al recuento de complejos TAT y de plaquetas habiendo otros marcadores que pueden ser analizados, como el dímero D como detector precoz de la trombogenicidad y algún parámetro de agregabilidad plaquetaria.
- El estudio de la respuesta inflamatoria está limitado al recuento de leucocitos habiendo otros marcadores que pueden ser analizados. La valoración de la respuesta inflamatoria va más allá de la medición de leucocitos podría incluir la evaluación de diversos marcadores sanguíneos, signos clínicos y pruebas complementarias. La combinación de estos parámetros permitiría obtener una visión más completa de la intensidad y características de la inflamación en cada caso particular, por ejemplo, la proteína C reactiva y la interleucina IL-6.
- El estudio de la hemólisis está limitado al recuento de hematíes habiendo otros

marcadores que pueden ser analizados.

- No se ha estudiado de la corrosión de la superficie de los stents que influye al acúmulo de iones en la superficie y que modifica la interacción con la sangre y por lo tanto su respuesta biológica.
- Existe variabilidad en los niveles de los diferentes parámetros analizados en el ser humano que pueden sesgar los resultados.
- El modelo *Chandler loop* no permite determinar la verdadera influencia a medio y largo plazo y su efecto en las tasas de reestenosis de los stents.

6. CONCLUSIONES

El análisis crítico de los resultados obtenidos en el presente trabajo de investigación permite formular las siguientes conclusiones a los objetivos planteados:

Conclusiones al objetivo principal:

- El estudio de la trombogenicidad mediante el análisis de los complejos TAT ha mostrado combinaciones de modificaciones químicas de la superficie en stents de nitinol menos trombogénicas que otras.
- La combinación de cavitación (US) con TICKOPUR TR13 al 1% (SL2) posterior pasivación con ácido nítrico (HNO_3) o con peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y almacenaje durante 3 semanas en Falcon es la menos trombogénica de las combinaciones estudiadas.

Conclusiones a los objetivos secundarios:

- El análisis de las plaquetas como parámetro del análisis de la trombogenicidad de la sangre en contacto con stents de nitinol no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie.
- El análisis de los hematíes como parámetro de análisis de la hemólisis de la sangre en contacto con stents de nitinol no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie.
- El análisis de los leucocitos como parámetro de la respuesta inflamatoria de la sangre en contacto con stents de nitinol no muestra una disminución estadísticamente significativa entre el grupo basal, control y los grupos de stents de nitinol sometidos a diferentes modificaciones de la superficie.
- El modelo *Chandler loop* permite realizar pruebas de hemocompatibilidad y trombogenicidad *in vitro*.

7. BIBLIOGRAFÍA

- 1 Adams A, Fischer G, Vroman L. The complexity of blood at simple interfaces. *J Colloid Interface Sci.* 1978; 65: 468-478.
[https://doi.org/10.1016/0021-9797\(78\)90098-X](https://doi.org/10.1016/0021-9797(78)90098-X)
- 2 Alt E, Seliger C. Antithrombotic stent coatings: hirudin/ilprost combination. *Semin Intervent Cardiol.* 1998; 3: 177-183. PMID: 10406690
- 3 Armitage D, Parker T, Grant D. Biocompatibility and haemocompatibility of surface-modified NiTi alloys. *J Biomed Mater Res.* 2003; 66: 129-137.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.10549>
- 4 Attizzani GF, Capodanno D, Ohno Y, et al. Mechanisms, pathophysiology, and clinical aspects of incomplete stent apposition. *J Am Coll Cardiol.* 2014; 63: 1355-1367.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2014.01.019>
- 5 Banai S, Kurgan A, Gertz SD. Coronary Atherosclerosis and Restenosis. En: Sperelakis N, editor. *Heart Physiology and Pathophysiology.* 4.^a ed. Academic Press. 2001. p. 967-1009.
- 6 Baurischmidt P, Schaldach M. The electrochemical aspects of the thrombogenicity of a material. *J Bioeng.* 1977; 1: 261-278.
- 7 Berger-Gorbet M, Broxup B, Rivard C, et al. Biocompatibility testing of NiTi screws using immunohistochemistry on sections containing metallic implants. *J Biomed Mater Res.* 1996; 32: 243-248.
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199610\)32:2<243::AID-JBM14>3.0.CO;2-K](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199610)32:2<243::AID-JBM14>3.0.CO;2-K)
- 8 Bhat SV. *Biomaterials.* Alpha Science International, Ltd. 2.^a ed. 2005. p. 64-65.
- 9 Byrne RA, Joner M, Kastrati A. Polymer coatings and delayed arterial healing following drug-eluting stent implantation. *Minerva Cardioangiol.* 2009; 57: 567-584. PMID: 19838148
- 10 Byrne RA, Iijima R, Mehilli J, et al. Durability of antirestenotic efficacy in drug-eluting stents with and without permanent polymer. *JACC*

- Cardiovasc Interv. 2009; 2: 291-299.
<https://doi.org/10.1016/j.jcin.2008.11.015>
- 11 Byrne RA, Joner M, Tada T, et al. Restenosis in bare metal and drug-eluting stents: distinct mechanistic insights from histopathology and optical intravascular imaging. *Minerva Cardioangiol.* 2012; 60: 473-489. PMID: 23018428
 - 12 Byrne RA, Joner M, Alfonso F, et al. Treatment of In-Stent Restenosis. En: Bhatt DL, editor. *Cardiovascular Intervention: A Companion to Braunwald's Heart Disease.* 1.^a ed. Elsevier. 2015. p. 209-222.
 - 13 Byrne RA, Joner M, Kastrati A. Stent thrombosis and restenosis: what have we learned and where are we going? The Andreas Grüntzig Lecture ESC 2014. *Eur Heart J.* 2015; 14: 3320-3331.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv511>
 - 14 Byrne RA, Serruys PW, Baumbach A, et al. Report of a European Society of Cardiology-European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions task force on the evaluation of coronary stents in Europe: executive summary. *Eur Heart J.* 2015; 38: 2608-2620.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv203>
 - 15 Camenzind E, Steg PG, Wijns W. Stent thrombosis late after implantation of first-generation drug-eluting stents: a cause for concern. *Circulation.* 2007; 115: 1440-1455.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.666800>
 - 16 Carter AJ, Scott D, Laird JR. Progressive vascular remodeling and reduced neointimal formation after placement of a thermoelastic self-expanding Nitinol stent in an experimental model. *Cathet Cardiovasc Diagn.* 1998; 44: 193-201.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0304\(199806\)44:2<193::aid-ccd13>3.0.co;2-o](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0304(199806)44:2<193::aid-ccd13>3.0.co;2-o)
 - 17 Cassese S, Byrne RA, Tada T, et al. Incidence and predictors of restenosis after coronary stenting in 10.004 patients with surveillance angiography. *Heart.* 2014; 100: 153-159.

- <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2013-304933>
- 18 Cassese S, Byrne RA, Schulz S, et al. Prognostic role of restenosis in 10,004 patients undergoing routine control angiography after coronary stenting. *Eur Heart J*. 2015; 36: 94-99.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehu383>
- 19 Castleman LS, Motzkin SM, Alicandri FP, et al. Biocompatibility of nitinol alloy as an implant material. *J Biomed Mater Res*. 1976; 10: 695-731.
<https://doi.org/10.1002/jbm.820100505>
- 20 Cayla G, Hulot JS, O'Connor SA, et al. Clinical, angiographic, and genetic factors associated with early coronary stent thrombosis. *JAMA*. 2011; 306: 1765-1774.
<https://doi.org/10.1001/jama.2011.1529>
- 21 Costa MA, Simon DI. Molecular basis of restenosis and drug-eluting stents. *Circulation*. 2005; 111: 2257-2273.
<https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000163587.36485.A7>
- 22 Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, et al. Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation*. 2007; 115: 2344-2351.
[10.1161/CIRCULATIONAHA.106.685313](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.685313)
- 23 Davis JR. *Handbook of Materials for Medical Devices*. ASM International. 2003. p 21-50.
- 24 De Scheerder I, Verbeken E, Van Humbeeck J. Metallic surface modification. *Semin Interv Cardiol*. 1998; 3:139-144. PMID: 10406683
- 25 DePalma VA, Baier RE, Ford JW, et al. Investigation of three-surface properties of several metals and their relation to blood compatibility. *J Biomed Mater Res*. 1972; 6: 37-75.
<https://doi.org/10.1002/jbm.820060406>
- 26 Dibra A, Mehilli J, Braun S, et al. Inflammatory response after intervention assessed by serial C-reactive protein measurements correlates with restenosis in patients treated with coronary stenting. *Am Heart J*. 2005; 150: 344-350.
<https://doi.org/10.1016/j.ahj.2004.09.030>

- 27 Duerig T, Pelton A, Stockel D. An Overview of Nitinol Medical Applications. *Materials Science and Engineering: A*. 1999; 273: 149-160.
[https://doi.org/10.1016/S0921-5093\(99\)00294-4](https://doi.org/10.1016/S0921-5093(99)00294-4)
- 28 Eigler NL, Khorsandi MJ, Forrester JS, et al. Implantation and recovery of temporary metallic stents in canine coronary arteries. *J Am Coll Cardiol*. 1993; 22: 1207-1213.
[https://doi.org/10.1016/0735-1097\(93\)90439-8](https://doi.org/10.1016/0735-1097(93)90439-8)
- 29 Farb A, Sangiorgi G, Carter AJ, et al. Pathology of acute and chronic coronary stenting in humans. *Circulation*. 1999; 99: 44-52.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.99.1.44>
- 30 Giustino G, Colombo A, Camaj A, et al. Coronary In-Stent Restenosis: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2022; 80: 348-372.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.05.017>
- 31 Goldberg L, Bosco P, Shors E, et al. Effect of surface porosity on early thrombogenicity using vascular grafts with two surfaces in sequence. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1981; 27: 517-521. PMID: 7331121
- 32 Goldberg SL, Di Mario C, Hall P, et al. Comparison of aggressive versus nonaggressive balloon dilatation for stent deployment on late loss and restenosis in native coronary arteries. *Am J Cardiol*. 1998; 81: 708-712.
[https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(97\)01017-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(97)01017-5)
- 33 Gonzalo N, Serruys PW, Okamura T, et al. Optical coherence tomography patterns of stent restenosis. *Am Heart J*. 2009; 158: 284-293.
<https://doi.org/10.1016/j.ahj.2009.06.004>
- 34 Grüntzig A. Transluminal dilatation of coronary-artery stenosis. *Lancet*. 1978; 311: 263.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(78\)90500-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(78)90500-7)
- 35 Gutensohn K, Beythien C, Bau J, et al. In vitro analyses of diamond-like carbon coated stents: reduction of metal ion release, platelet activation, and thrombogenicity. *Thromb Res*. 2000; 99: 577-585.
[https://doi.org/10.1016/s0049-3848\(00\)00295-4](https://doi.org/10.1016/s0049-3848(00)00295-4)

- 36 Harnek J, Zoucas E, Carlemalm E, et al. Differences in endothelial injury after balloon angioplasty, insertion of balloon-expanded stents or release of self-expanding stents: an electron microscopic experimental study. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 1999; 22: 56-61.
<https://doi.org/10.1007/s002709900329>
- 37 Hehrlein C, Zimmermann M, Metz J, et al. Influence of surface texture and charge on the biocompatibility of endovascular stents. *Coron Artery Dis*. 1995; 6: 581-586. PMID: 7582197
- 38 Heintz C, Riepe G, Birken L, et al. Corroded nitinol wires in explanted aortic endografts: an important mechanism of failure? *J Endovasc Ther*. 2001; 8: 248-253.
<https://doi.org/10.1177/152660280100800303>
- 39 Herold G. *Innere Medizin*. Ed. 2013. Köln. p. 130.
- 40 Howard-Alpe G, Bono J, Hudsmith L, et al. Coronary artery stents and non-cardiac surgery. *Br J Anaesth*. 2007; 98: 560-574.
<https://doi.org/10.1093/bja/aem089>
- 41 Huang Y, Verbeken E, Schacht E, et al. Local drug delivery using drug-eluting stents. En: Serruys PW, Leon MB, Colombo A, Kutryk MJ, editores. *Coronary Lesions: A Pragmatic Approach*. Martin Dunitz Ltd. London. 2002. p. 319-335.
- 42 Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, et al. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA*. 2005; 293: 2126-2130.
<https://doi.org/10.1001/jama.293.17.2126>
- 43 Jantzen AE. Seeding of titanium surfaces and nitinol stents with blood-derived endothelial cells. [Tesis de grado]. Universidad de Duke; 2014. Recuperado a partir de:
<https://dukespace.lib.duke.edu/dspace/handle/10161/8725>
<https://hdl.handle.net/10161/8725>
- 44 Jung F, Wischke C, Lendlein A. Degradable, Multifunctional Cardiovascular Implants: Challenges and Hurdles. *MRS Bulletin*. 2010; 35: 607-613.

- <https://doi.org/10.1557/mrs2010.529>
- 45 Kastrati A, Schomig A, Dietz R, et al. Time course of restenosis during the first year after emergency coronary stenting. *Circulation*. 1993; 87: 1498-1505.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.87.5.1498>
- 46 Kastrati A, Dibra A, Mehilli J, et al. Predictive factors of restenosis after coronary implantation of sirolimus- or paclitaxel-eluting stents. *Circulation*. 2006; 113: 2293-2300.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.601823>
- 47 Kastrati A, Mehilli J, Pache J, et al. Analysis of 14 trials comparing sirolimus-eluting stents with bare-metal stents. *N Engl J Med*. 2007; 356: 1030-1039.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa067484>
- 48 Kawai K, Virmani R, Finn AV. In-Stent Restenosis. *Interv Cardiol Clin*. 2022; 11: 429-443.
<https://doi.org/10.1016/j.iccl.2022.02.005>
- 49 Kimura T, Yokoi H, Nakagawa Y, et al. Three-year follow-up after implantation of metallic coronary-artery stents. *N Engl J Med*. 1996; 334: 561-566.
<https://doi.org/10.1056/nejm199602293340903>
- 50 Kimura T, Abe K, Shizuta S, et al. Long-term clinical and angiographic follow-up after coronary stent placement in native coronary arteries. *Circulation*. 2002; 105: 2986-2991.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.0000019743.11941.3b>
- 51 Kimura T, Morimoto T, Kozuma K, et al, RESTART Investigators. Comparisons of baseline demographics, clinical presentation, and long-term outcome among patients with early, late, and very late stent thrombosis of sirolimus-eluting stents: Observations from the Registry of Stent Thrombosis for Review and Reevaluation (RESTART). *Circulation*. 2010; 122: 52-61.
<https://doi.org/10.1161/circulationaha.109.903955>
- 52 Klien CL, Kohler H, Kirkpatrick CJ. Increased adhesion and activation

- of polymorphonuclear neutrophil granulocytes to endothelial cells under heavy metal exposure in vitro. *Pathobiology*. 1994; 62: 90-98.
<https://doi.org/10.1159/000163883>
- 53 Kolandaivelu K, Swaminathan R, Gibson WJ, et al. Stent thrombogenicity early in high-risk interventional settings is driven by stent design and deployment and protected by polymer-drug coatings. *Circulation*. 2011; 123: 1400-1409.
<https://doi.org/10.1161/circulationaha.110.003210>
- 54 Krajewski S, Pucek R, Panacek A, et al. Hemocompatibility evaluation of different silver nanoparticle concentrations employing a modified Chandler-loop in vitro assay on human blood. *Acta Biomater*. 2013; 9: 7460-7468.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.03.016>
- 55 Kurz P, Stampfl U, Christoph P, et al. Self-expanding nitinol renal artery stents: comparison of safety and efficacy of bare versus Polyzene-F nanocoated stents in a porcine model. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2011; 34: 139-148.
<https://doi.org/10.1007/s00270-010-9987-7>
- 56 Leon MB, Baim DS, Popma JJ, et al. A clinical trial comparing three antithrombotic-drug regimens after coronary-artery stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators. *N Engl J Med*. 1998; 339: 1665-1671.
<https://doi.org/10.1056/nejm199812033392303>
- 57 Luscher TF, Steffel J, Eberli FR, et al. Drug-eluting stent and coronary thrombosis: biological mechanisms and clinical implications. *Circulation*. 2007; 115: 1051-1058.
<https://doi.org/10.1161/circulationaha.106.675934>
- 58 Maitz M, Shevchenko N. Plasma-immersion ion-implanted nitinol surface with depressed nickel concentration for implants in blood. *J Biomed Mater Res A*. 2006; 76: 356-365.
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.30526>
- 59 Mani G, Feldman MD, Patel D, et al. Coronary stents: a materials

- perspective. *Biomaterials*. 2007; 28: 1689-1710.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2006.11.042>
- 60 Marmur JD, Cavusoglu E. The use of the glycoprotein lib/IIIa receptor antagonists during percutaneous coronary intervention. *J Interv Cardiol* . 2002; 15: 71-84.
<https://doi.org/10.1111/j.1540-8183.2002.tb01036.x>
- 61 Mega JL, Simon T, Collet JP, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA*. 2010; 304: 1821-1830.
<https://doi.org/10.1001/jama.2010.1543>
- 62 Nakano M, Otsuka F, Yahagi K, et al. Human autopsy study of drug-eluting stents restenosis: histomorphological predictors and neointimal characteristics. *Eur Heart J*. 2013; 34: 3304-3313.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv241>
- 63 Nygren H. Initial reactions of whole blood with hydrophilic and hydrophobic titanium surfaces. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 1996; 6: 329-333.
[https://doi.org/10.1016/0927-7765\(96\)01270-2](https://doi.org/10.1016/0927-7765(96)01270-2)
- 64 O'Brien B, Carroll W, Kelly M. Passivation of nitinol wire for vascular implants—a demonstration of the benefits. *Biomaterials*. 2002; 23: 1739-1748.
[https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(01\)00299-x](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(01)00299-x)
- 65 Otsuka F, Byrne RA, Yahagi K, et al. Neoatherosclerosis: overview of histopathologic findings and implications for intravascular imaging assessment. *Eur Heart J*. 2015; 36: 2147-2159.
<https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehv205>
- 66 Pache J, Kastrati A, Mehilli J, et al. Intracoronary stenting and angiographic results: strut thickness effect on restenosis outcome (ISAR-STEREO-2) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2003; 41: 1283-1288.
[https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(03\)00119-0](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(03)00119-0)
- 67 Palmaz J, Benson A, Sprague E. Influence of surface topography on

- endothelialization of intravascular metallic material. *J Vasc Interv Radiol*. 1999; 10: 439-444.
[https://doi.org/10.1016/s1051-0443\(99\)70063-1](https://doi.org/10.1016/s1051-0443(99)70063-1)
- 68 Palmaz J. The 2001 Charles T. Dotter lecture: understanding vascular devices at the molecular level is the key to progress. *J Vasc Interv Radiol*. 2001; 12: 789-794.
[https://doi.org/10.1016/s1051-0443\(07\)61502-4](https://doi.org/10.1016/s1051-0443(07)61502-4)
- 69 Podila R, Moore T, Alexis F, et al. Graphene coatings for biomedical implants. *J Vis Exp*. 2013; 73: 50276.
<https://doi.org/10.3791/50276>
- 70 Pohl M, Heßing C, Frenzel J. Electrolytic processing of NiTi shape memory alloys. *Materials Science and Engineering: A*. 2004; 378, 191-199.
<https://doi.org/10.1016/j.msea.2003.11.080>
- 71 Pulletikurthi C, Munroe N, Stewart D, et al. Utility of magneto-electropolished ternary nitinol alloys for blood contacting applications. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2015; 103: 1366-1374.
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.33317>
- 72 Pytela R, Pierschbacher M, Ginsbergh M. Platelet membrane glycoprotein IIb/IIIa: member of a family of Arg-Gly-Asp--specific adhesion receptors. *Science*. 1986; 231: 1559-1562.
<https://doi.org/10.1126/science.2420006>
- 73 Raber L, Magro M, Stefanini GG, et al. Very late coronary stent thrombosis of a newer-generation everolimus-eluting stent compared with early-generation drug-eluting stents: a prospective cohort study. *Circulation*. 2012; 125: 1110-1121.
<https://doi.org/10.1161/circulationaha.111.058560>
- 74 Rathore S, Terashima M, Katoh O, et al. Predictors of angiographic restenosis after drug eluting stents in the coronary arteries: contemporary practice in real world patients. *EuroIntervention*. 2009; 5: 349-354.
<https://doi.org/10.4244/v5i3a55>

- 75 Raungaard B, Jensen LO, Tilsted HH, et al, Scandinavian Organization for Randomized Trials with Clinical Outcome (SORT OUT). Zotarolimus-eluting durable-polymer-coated stent versus a biolimus-eluting biodegradable-polymer-coated stent in unselected patients undergoing percutaneous coronary intervention (SORT OUT VI): a randomised non-inferiority trial. *Lancet*. 2015; 385: 1527-1535.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(14\)61794-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(14)61794-3)
- 76 Rechavia E, Fishbien MC, DeFrance T. Temporary arterial stenting: comparison to permanent stenting and conventional balloon injury in a rabbit carotid artery model. *Cathet Cardiovasc Diagn*. 1997; 41: 85-92.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0304\(199705\)41:1%3C85::aid-ccd19%3E3.0.co;2-p](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0304(199705)41:1%3C85::aid-ccd19%3E3.0.co;2-p)
- 77 Ruckenstein E, Gourisankar SV. A surface energetic criterion of blood compatibility of foreign surfaces. *J Colloid Interf Sci*. 1984; 101(2): 436-451.
[https://doi.org/10.1016/0021-9797\(84\)90055-9](https://doi.org/10.1016/0021-9797(84)90055-9)
- 78 Ryhänen J. Biocompatibility evaluation of nickel-titanium shape memory metal alloy. [Tesis de grado]. Universidad de Oulu; 1999.
Recuperado a partir de:
<http://jultika.oulu.fi/Record/isbn951-42-5221-7>
<http://jultika.oulu.fi/files/isbn9514252217.pdf>
- 79 Sabate M, Cequier A, Iniguez A, et al. Everolimus-eluting stent versus bare-metal stent in ST-segment elevation myocardial infarction (EXAMINATION): 1 year results of a randomised controlled trial. *Lancet*. 2012; 380: 1482-1490.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61223-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61223-9)
- 80 Satzl S, Henn C, Christoph P, et al. The efficacy of nanoscale poly[bis(trifluoroethoxy)phosphazene] (PTFEP) coatings in reducing thrombogenicity and late in-stent stenosis in a porcine coronary artery model. *Invest Radiol*. 2007; 42: 303-311.
<http://dx.doi.org/10.1097/01.rli.0000261439.90760.9d>
- 81 Schmehl JM, Harder C, Wendel HP, et al. Silicon carbide coating of

- nitinol stents to increase antithrombogenic properties and reduce nickel release. *Cardiovasc Revasc Med*. 2008; 9: 255-262.
<https://doi.org/10.1016/j.carrev.2008.03.004>
- 82 Schomig A, Neumann FJ, Kastrati A, et al. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med*. 1996; 334: 1084-1089.
<https://doi.org/10.1056/nejm199604253341702>
- 83 Serruys PW, Strauss BH, Beatt KJ, et al. Angiographic follow-up after placement of a self-expanding coronary-artery stent. *N Engl J Med*. 1991; 324: 13-17.
<https://doi.org/10.1056/nejm199101033240103>
- 84 Sethi R, Lee CH. Endothelial progenitor cell capture stent: safety and effectiveness. *J Interv Cardiol*. 2012; 25: 493-500.
<https://doi.org/10.1111/j.1540-8183.2012.00740.x>
- 85 Shabalovskaya S. On the nature of the biocompatibility and on medical applications of NiTi shape memory and superelastic alloys. *Biomed Mater Eng*. 1996; 6: 267-289. PMID: 8980835
- 86 Shabalovskaya S, Anderegg J, Rondelli G, et al. The effect of surface particulates on the corrosion resistance of Nitinol wire. En: Pelton AR, Duerig T, editores. SMST-2003. Proceedings of international conference on shape memory and superelastic technologies. SMST Society. California. 2003. p. 399-408.
- 87 Shabalovskaya S, Wataha J, Anderegg J, et al. Surface treatments and biocompatibility of Nitinol. En: Mertmann M, editor. SMST-2004. Proceedings of international conference on shape memory and superelastic technologies. ASM International. Alemania. 2004. p. 367-373.
- 88 Shabalovskaya S, Anderegg J, Van Humbeeck J. Critical overview of nitinol surfaces and their modifications for medical applications. *Acta Biomater*. 2008; 4: 447-467.
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.01.013>
- 89 Shabalovskaya SA, Siegismund D, Heurich E, et al. Evaluation of

- wettability and surface energy of native Nitinol surfaces in relation to hemocompatibility. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2013; 33: 127-132.
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.08.018>
- 90 Sheth S, Litvack F, Dev V, et al. Subacute thrombosis and vascular injury resulting from slotted-tube nitinol and stainless steel stents in a rabbit carotid artery model. *Circulation.* 1996; 94: 1733-1740.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.94.7.1733>
- 91 Sigwart U, Puel J, Mirkovitch V, et al. Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty. *N Engl J Med.* 1987; 316: 701-706.
<https://doi.org/10.1056/nejm198703193161201>
- 92 Sinn S, Scheuermann T, Deichelbohrer S, et al. A novel in vitro model for preclinical testing of the hemocompatibility of intravascular stents according to ISO 10993-4. *J Mater Sci Mater Med.* 2011; 22: 1521-1528.
<https://doi.org/10.1007/s10856-011-4335-2>
- 93 Sprague EA, Luo J, Palmaz JC. Endothelial cell migration onto metal stent surfaces under static and flow conditions. *J Long Term Eff Med Implants.* 2000; 10: 97-110. PMID: 10947633
- 94 Steinhubl SR, Ellis SG, Wolski K, et al. Ticlopidine pretreatment before coronary stenting is associated with sustained decrease in adverse cardiac events: data from the evaluation of platelet IIb/IIIa inhibitor for stenting (EPISTENT) trial. *Circulation.* 2001; 103: 1403-1409.
<https://doi.org/10.1161/01.cir.103.10.1403>
- 95 Stoeckel D, Pelton A, Duerig T. Self-expanding nitinol stents: material and design considerations. *Eur Radiol.* 2004; 14: 292-301.
<https://doi.org/10.1007/s00330-003-2022-5>
- 96 Stone GW, Witzenbichler B, Weisz G, et al, ADAPT-DES Investigators. Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study. *Lancet.* 2013; 382: 614-623.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)61170-8](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)61170-8)
- 97 Sumita M, Teoh SH. Durability of metallic implant materials. En: Teoh

- SH, editor. Engineering materials for biomedical applications. Singapore. World Scientific Publishing Co. 2004. p. 2-1–2-31.
- 98 Swayer P, Pate J. Bio-electric phenomena as etiological agents in intravascular thrombosis. *Surgery*. 1953; 34: 491-500. PMID: 13090039
- 99 Tada T, Byrne RA, Simunovic I, et al. Risk of stent thrombosis among bare-metal stents, first-generation drug-eluting stents, and second-generation drug-eluting stents: results from a registry of 18,334 patients. *JACC Cardiovasc Interv*. 2013; 6: 1267-1274.
<https://doi.org/10.1016/j.jcin.2013.06.015>
- 100 Taylor A. Metals. En: Sigwart U, editor. Endoluminal stenting. London. W.B. Saunders Company Ltd. 1996. p. 28–33.
- 101 Tepe G, Wendel HP, Khorchidi S, et al. Thrombogenicity of various endovascular stent types: an in vitro evaluation. *J Vasc Interv Radiol*. 2002; 13: 1029-35.
[https://doi.org/10.1016/s1051-0443\(07\)61868-5](https://doi.org/10.1016/s1051-0443(07)61868-5)
- 102 Tepe G, Schmehl J, Wendel HP, et al. Reduced thrombogenicity of nitinol stents--in vitro evaluation of different surface modifications and coatings. *Biomaterials*. 2006; 27: 643-650.
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2005.06.004>
- 103 Thierry B, Tabrizian M, Trepanier C, et al. Effects of surface treatment and sterilisation processes on the corrosion behavior of NiTi shape memory alloy. *J Biomed Mater Res*. 2000; 51: 685-693.
[https://doi.org/10.1002/1097-4636\(20000915\)51:4%3C685::aid-jbm17%3E3.0.co;2-s](https://doi.org/10.1002/1097-4636(20000915)51:4%3C685::aid-jbm17%3E3.0.co;2-s)
- 104 Thierry B, Merhi Y, Bilodeau L, et al. Nitinol versus stainless steel stents: acute thrombogenicity study in an ex vivo porcine model. *Biomaterials*. 2002; 23: 2997-3005.
[https://doi.org/10.1016/s0142-9612\(02\)00030-3](https://doi.org/10.1016/s0142-9612(02)00030-3)
- 105 Touma H, Sahin I, Gaamangwe T, et al. Numerical investigation of fluid flow in a chandler loop. *J Biomech Eng*. 2014; 136.
<https://doi.org/10.1115/1.4027330>
- 106 Trepanier C, Tabrizian M, Yahia LH, et al. Effect of modification of oxide

- layer on NiTi stent corrosion resistance. *J Biomed Mater Res.* 1998; 43: 423-430.
[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-4636\(199824\)43:4%3C433::aid-jbm11%3E3.0.co;2-#](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-4636(199824)43:4%3C433::aid-jbm11%3E3.0.co;2-#)
- 107 Trepanier C, Venugopalan R, Pelton AR. Corrosion resistance and biocompatibility of passivated NiTi. En: Yahia LH, editor. *Shape memory implants.* New York. Springer. 2000. p. 35-45.
- 108 Ullrich H, Olschewski M, Münzel T, et al. Coronary In-Stent Restenosis: Predictors and Treatment. *Dtsch Arztebl Int.* 2021; 118: 637-644.
<https://doi.org/10.3238/arztebl.m2021.0254>
- 109 van Oeveren W, Tielliu IF, de Hart J. Comparison of modified chandler, roller pump, and ball valve circulation models for in vitro testing in high blood flow conditions: application in thrombogenicity testing of different materials for vascular applications. *Int J Biomater* 2012; 2012.
<https://doi.org/10.1155/2012/673163>
- 110 van Werkum JW, Heestermans AA, Zomer AC, et al. Predictors of coronary stent thrombosis: the Dutch Stent Thrombosis Registry. *J Am Coll Cardiol.* 2009; 53: 1399-1409.
<https://doi.org/10.1016/j.jacc.2008.12.055>
- 111 Waksman R, Pakala R. Biodegradable and bioabsorbable stents. *Curr Pharm Des.* 2010; 16: 4041-4051.
<https://doi.org/10.2174/138161210794454905>
- 112 Wiviott S, Braunwald E, McCabe CH, et al. Intensive oral antiplatelet therapy for reduction of ischaemic events. *Lancet.* 2008; 371: 1353-1363.
[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(08\)60422-5](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(08)60422-5)
- 113 Yamaji K, Kimura T, Morimoto T, et al. Very long-term (15 to 20 years) clinical and angiographic outcome after coronary bare metal stent implantation. *Circ Cardiovasc Interv.* 2010; 3: 468-475.
<https://doi.org/10.1161/circinterventions.110.958249>
- 114 Zhao H, Humbeeck JV, Sohier J, et al. Electrochemical polishing of 316L stainless steel slotted tube coronary stents. *J Mater Sci Mater*

Med. 2002; 13: 911-916.

<https://doi.org/10.1023/a:1019831808503>

- 115 Zitter H, Plenk H. The electrochemical behavior of metallic implant materials as an indicator of their biocompatibility. *J Biomed Mater Res.* 1987; 21: 881-896.
<https://doi.org/10.1002/jbm.820210705>