

França Spener, Roberta; Breda, João Roberto; Casemiro Pires, Adilson; da Silva Pinhal,  
Maria Aparecida; Peres do Souto, Ricardo

Expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo epicárdico após intervenção  
coronária percutânea com implante de stent metálico

Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular/Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery,  
vol. 26, núm. 3, julio-septiembre, 2011, pp. 427-432

Sociedade Brasileira de Cirurgia Cardiovascular  
São José do Rio Preto, Brasil

Disponível em: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=398941882018>

- ▶ Como citar este artigo
- ▶ Número completo
- ▶ Mais artigos
- ▶ Home da revista no Redalyc

# Expressão gênica de adiponectina no tecido adiposo epicárdico após intervenção coronária percutânea com implante de stent metálico

*Adiponectin expression in epicardial adipose tissue after percutaneous coronary intervention with bare-metal stent*

Roberta França Spener<sup>1</sup>, João Roberto Breda<sup>2</sup>, Adilson Casemiro Pires<sup>3</sup>, Maria Aparecida da Silva Pinhal<sup>4</sup>, Ricardo Peres do Souto<sup>5</sup>

DOI:10.5935/1678-9741.20110018

RBCCV 44205-1299

## Resumo

**Introdução:** A visão clássica de tecido adiposo como um reservatório passivo para o armazenamento de energia não é mais válido. Na última década, o tecido adiposo tem demonstrado funções endócrinas, sendo o peptídeo mais abundante secretado pelos adipócitos a adiponectina. O tecido adiposo epicárdico (TAE) é distribuído em torno das artérias coronárias e, a lesão endovascular causada pela presença de stent metálico intracoronário, poderia promover alterações inflamatórias na gordura periadventicial, contribuindo para reestenose.

**Objetivo:** Determinar a expressão gênica de mediadores inflamatórios no tecido adiposo epicárdico após implante de stent metálico com reestenose que haviam sido encaminhados para tratamento cirúrgico.

**Métodos:** Amostras pareadas de TAE foram colhidas no momento da cirurgia de revascularização miocárdica (CRM) em 11 pacientes ( $n = 22$ ), uma amostra foi obtida do tecido em torno da área com stent e outra amostra em torno da artéria coronária sem stent. Expressão local de adiponectina foi determinada por reação em cadeia de polimerase em tempo real utilizando Taq DNA polimerase.

**Resultados:** Em duas amostras, não houve expressão do gene da adiponectina. Fomos capazes de identificar adiponectina em 20 amostras, no entanto, o padrão de

expressão gênica foi heterogêneo. Não percebemos especificidade quando comparamos TAE obtido próximo à área de stent ou distante da área de stent.

**Conclusão:** Não houve correlação entre a expressão do gene de adiponectina e a presença de stent intracoronário.

**Descritores:** Adiponectina. Reestenose coronária. Angioplastia transluminal percutânea coronária.

## Abstract

**Background:** The classical view of adipose tissue as a passive reservoir for energy storage is no longer valid. In the past decade, adipose tissue has been shown to have endocrine functions and the most abundant peptide secreted by adipocytes is adiponectin. Pericardial adipose tissue (PAT) is distributed around coronary arteries and endovascular injury, caused by the presence of intracoronary bare-metal stent (BMS), could promote inflammatory changes in the periadventitial fat, contributing to vascular restenosis.

**Objective:** We sought to determine gene expression of inflammatory mediator in pericardial adipose tissue after bare-metal stent implantation and vascular restenosis that had been referred to operative treatment.

1. Acadêmica; Aluna de graduação de Medicina.

2. Doutorado; Professor Auxiliar.

3. Doutorado; Professor Titular.

4. Professora Titular de Bioquímica/FMABC.

5. Doutorado; Professor Adjunto.

Trabalho realizado no Serviço de Cirurgia Cardiovascular do Hospital Estadual Mário Covas/Disciplinas de Bioquímica e Cirurgia Cardiovascular da FMABC, São Bernardo do Campo, SP, Brasil.

Endereço para correspondência:

João Roberto Breda. Rua Silva Jardim, 470 – São Bernardo do Campo, SP, Brasil – CEP: 09715-090

E mail: jrbreda@hotmail.com

Apoio: Programa de Iniciação Científica da FMABC: CNPq

Artigo recebido em 10 de fevereiro de 2011

Artigo aprovado em 22 de agosto de 2011

**Methods:** Paired samples of PAT were harvested at the time of elective coronary artery bypass surgery (CABG) in 11 patients (n=22), one sample was obtained of the tissue around BMS area and another sample around coronary artery without stent. Local expression of adiponectin was determined by real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) using Taq DNA polymerase.

**Results:** In two samples, there was no gene expression of adiponectin. We are able to identify adiponectin in 20

samples, however, the pattern of gene expression were heterogeneous. We did not notice specificity when we compared PAT obtained near BMS area or far from BMS area.

**Conclusion:** There were no correlation between adiponectin gene expression and presence of BMS.

**Descriptors:** Adiponectin. Coronary restenosis. Angioplasty, transluminal, percutaneous coronary.

## INTRODUÇÃO

Os resultados de diversos estudos realizados na última década indicam que mecanismos inflamatórios desempenham papel central no processo de neoproliferação da camada íntima, responsável pela restenose após o implante percutâneo de stent metálico intracoronário. O dano celular causado pela implantação do stent parece ser o fator desencadeante para a liberação de moléculas quimiotáticas, como o fator de necrose tumoral (TNFá) e interleucinas (IL) pelas células endoteliais e leucócitos, causando o recrutamento de células inflamatórias para o interior do stent [1].

Apesar dos mecanismos propostos para restenose pós-implantação de stent usualmente considerarem fatores inflamatórios de origem vascular, é razoável supor que fontes extravasculares possam contribuir de forma significante para a ocorrência desse fenômeno, é o caso do tecido adiposo epicárdico (TAE) localizado ao redor das artérias coronárias. Postula-se que o TAE seja um depósito de reservas energéticas lipídicas para o coração e, possivelmente, ofereça certo grau de proteção mecânica para as artérias coronárias [2-4]. Além dessas funções clássicas, o tecido adiposo é hoje reconhecido como um órgão endócrino e parácrino ativo, que secreta diversas moléculas bioativas, conhecidas coletivamente como adipocinas. Essas moléculas apresentam efeito modulador do processo inflamatório, característica comum ao TAE, que é capaz de secretar adipocinas pró e anti-inflamatórias e, possivelmente, assumir papel relevante no processo de restenose após angioplastia com implante de stent [5,6].

A gordura epicárdica de indivíduos com doença coronariana apresenta expressão aumentada de TNF-alfa, IL-6, leptina, visfatin e diminuída de adiponectina na comparação com a gordura epicárdica de indivíduos sem doença coronariana [7-10]. Os níveis de RNA mensageiro (mRNA) de adiponectina e IL-6 em TAE estão diretamente associados à extensão da doença coronariana, observa-se que, quanto maior o número de artérias acometidas, menor o nível de adiponectina e maior o nível de IL-6 [9].

Considerando-se as características peculiares do TAE e suas similaridades com a gordura visceral, é natural a elaboração de hipóteses onde este tipo de gordura desempenhe papel relevante na evolução da doença cardiovascular e, possivelmente, no mecanismo de restenose após implante do stent (por provável resposta inflamatória).

O objetivo deste trabalho é determinar o perfil de expressão gênica da adiponectina no TAE de pacientes portadores de stent metálico submetidos à revascularização cirúrgica do miocárdio (RCM) e avaliar o impacto sobre o processo inflamatório decorrente da presença deste dispositivo intracoronário.

## MÉTODOS

Após aprovação institucional do Comitê de Ética e Pesquisa, duas amostras de TAE foram obtidas por biopsia em 11 pacientes submetidos à revascularização cirúrgica do miocárdio (RCM), com restenose angiográfica intra-stent diagnosticada por estudo hemodinâmico. Uma amostra foi retirada próxima à artéria coronária tratada com stent e outra, de uma artéria não tratada. Os tecidos foram congelados imediatamente em nitrogênio líquido e transportados em seguida até o laboratório para armazenamento em freezer -70°C até processamento para extração de RNA.

Os pacientes concordaram em participar do estudo, assinando o termo de consentimento informado.

## Extração do RNA

O tecido congelado em nitrogênio líquido foi pesado em balança analítica e macerado usando pistilo e gral. Os fragmentos foram transferidos para tubo de 1,5 mL, no qual foi adicionado 1,0 mL de Trizol (Invitrogen) e, sem seguida, homogeneizado vigorosamente. Centrifugou-se a 4°C, 12.000 g, por 10 minutos. A fase intermediária foi transferida para outro tubo, desprezando o precipitado e a fase superior (triglicérides). Adicionou-se 200 µL de clorofórmio e homogeneizou-se lentamente por 15 segundos, ficando após 3 minutos em repouso. Centrifugou-se novamente a

4°C, 12.000 g por 15 minutos e passou-se a fase aquosa para outro tubo. Adicionou-se 500 µL de isopropanol e deixou-se precipitar por 10 minutos à temperatura ambiente. Centrifugou-se a 4°C, 12.000 g por 10 minutos e desprezou-se o sobrenadante.

Adicionou-se 1 mL de etanol a 75% ao sedimento e centrifugou-se a 7.500 g por 5 minutos. Retirou-se cuidadosamente todo o sobrenadante do tubo, que foi desprezado. Centrifugou-se a vácuo a 60°C por 2,5 minutos. Ressuspendeu-se o sedimento com 25 µL de água deionizada tratada com dietilpirocianato (DEPC), homogeneizando com a própria pipeta. Adicionou-se 40 U de inibidor de RNases (RNaseOUT, Invitrogen), homogeneizando novamente. Armazenou-se a preparação de RNA a -70°C.

#### Determinação da qualidade da preparação de RNA

A quantificação da concentração de RNA de cada amostra foi realizada por meio do protocolo Qubit Quantitation Platform, que se compõe do aparelho Qubit fluorômetro (Invitrogen) e dos reagentes do kit Quant-it (Invitrogen). Preparou-se a solução de trabalho (*working solution*) com 200 µL de tampão e 1 µL de corante. Para calibração do aparelho foram preparadas duas amostras-padrão com 190 µL de *working solution* e 10 µL de padrão negativo ou positivo. De cada amostra de RNA, foi utilizado 1 µL, ao qual se adicionou 199 µL de *working solution*. Todos os tubos foram homogeneizados em vórtex e incubados à temperatura ambiente (25°C) por 2 minutos. As amostras foram então lidas no Qubit fluorômetro.

#### Síntese de cDNA

O RNA total foi transformado em cDNA por meio de reação de transcrição reversa, empregando-se reagentes fornecidos pela Invitrogen. Adicionou-se, em um tubo novo e estéril, 1 µL de oligo dT<sub>12-18</sub> (0,5 µg/µL), 1 µg de RNA, 1 µL de dNTP (10 mM) e 9 µL de água deionizada tratada com dietilpirocianato (DEPC), totalizando um volume de 13 µL. Aqueceu-se a solução a 65°C por 5 minutos, incubando-se, em seguida, em gelo, por 1 minuto. Centrifugou-se rapidamente. Adicionou-se, então, 4 µL de tampão 5X First-Strand (250 mM Tris-HCl pH 8,4; 375 mM KCl, 15 mM MgCl<sub>2</sub>, 1 µL de DTT (0,1M), 1 µL de inibidor de RNases (RNaseOUT, Invitrogen) (40 U/µL) e 1 µL de enzima Superscript RT III (200 U/µL), e misturou-se por pipetagem. Incubou-se a 50°C por 60 minutos e, em seguida, a 70°C por 15 minutos.

#### Amplificação do cDNA (RT-PCR)

O cDNA específico de Adiponectina (ADIPOQ), TNF alfa, CD45, Interleucina-6 (IL6), MCP-1 e GAPDH (controle) foi amplificado por PCR (reação de polimerização em cadeia) utilizando-se Taq DNA polimerase (Invitrogen) e pares de

iniciadores de reação (*primers*) descritos na literatura ou escolhidos em função das respectivas sequências de mRNA depositadas no GenBank. Adicionou-se, em um tubo novo e estéril, 2 µL de tampão de PCR 10x sem magnésio (200 mM Tris-HCl pH 8,4 e 500 mM KCl), 0,4 µL de dNTP (10 mM), 0,6 µL de MgCl<sub>2</sub> 50 mM (este volume é utilizado para concentração final de 1,5 mM de magnésio), 0,1 µL de Taq DNA polimerase (5U/µL) (Invitrogen), 1,0 µL de cDNA, e 1,0 µL dos pares de iniciadores de reação (*primers*), e completou-se o volume até 20 µL de água deionizada autoclavada. Incubou-se a 94°C por 5 minutos, seguido de um ciclo de 94°C por 1 minuto, 55-60°C por 1 minuto, 72°C por 1 minuto, que se repete 35 vezes. Incubou-se, então, a 72°C por 10 minutos. A temperatura de anelamento no ciclo de PCR foi ajustada para os *primers* específicos da seguinte forma: 60°C (Adiponectina), 56°C (GAPDH) ou 55°C (IL6, CD45, TNFalfa, MCP-1). Para padronização da técnica, cada reação de amplificação foi realizada três vezes, variando-se o número de ciclos de PCR (25, 30 e 35 ciclos), para se encontrar condição de amplificação onde ainda não houve saturação da reação e permitir a quantificação preliminar dos produtos de PCR.

#### Análise de PCR por eletroforese em gel de agarose

Os produtos de PCR foram separados por eletroforese em gel de agarose 2% em tampão TAE a 100 V e visualizados por fluorescência com 1,5 µL de brometo de etídio. A imagem do gel foi capturada por câmera fotográfica digital. A intensidade relativa das bandas foi quantificada por software Scion Image.

#### Análise dos resultados (cálculo de expressão relativa)

A análise das curvas de amplificação foi realizada utilizando o Rotor-Gene 6000 Series Software 1.7 (Qiagen®). Em razão da expressão dessas enzimas serem relativa, o cálculo foi determinado pelo número de ciclos (Cts). O resultado final foi obtido em relação à média dos ciclos do grupo controle (amostra calibradora), o valor da amostra calibradora foi o mesmo para todas as amostras, inclusive para o cálculo do próprio grupo controle.

#### RESULTADOS

Foram coletadas 22 amostras de aproximadamente 1 g provenientes do TAE, de duas regiões distintas de cada paciente (uma amostra era retirada próxima à artéria coronária tratada com stent e outra de artéria não tratada).

Em 21 amostras houve expressão de GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase), mostrando a viabilidade do RNA. Em uma amostra ocorreu variação da intensidade de amplificação, e será necessária a repetição destas reações (retirada do estudo). Todas as amostras expressaram adiponectina. A expressão corrigida de

adiponectina foi correlacionada com os dados clínicos dos pacientes (Tabela 1) e a sua variação em função da presença ou não do stent foi analisada individualmente (Figura 1).

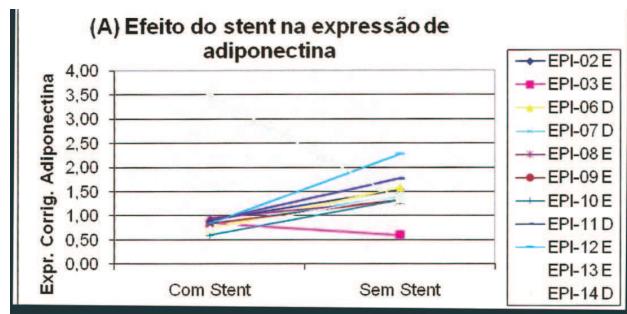


Fig. 1 - variação de adiponectina em função da presença ou não do stent

## DISCUSSÃO

Os resultados de diversos estudos realizados na última década indicam que mecanismos inflamatórios desempenham papel central no processo de neoproliferação da camada íntima que leva à restenose após o implante de stent intracoronário. O dano celular causado pela implantação do stent parece ser o fator desencadeante para a liberação de moléculas quimiotáticas (como TNFá, IL-1 e IL-6) pelas células endoteliais e leucócitos, causando recrutamento de células inflamatórias, principalmente intrastent. [1].

Em relação ao tecido adiposo subcutâneo do próprio portador da doença coronária, observou-se maior expressão no TAE destes pacientes de TNF-alfa, IL-6, IL-1beta e menor expressão de adiponectina, CD45 e leptina [11,12]. Assim, o perfil de expressão gênica do TAE aproximou-se mais da gordura dos compartimentos viscerais, cujo acúmulo está associado a risco aumentado de doença aterosclerótica [11,13,14]. Recentemente, Baker et al. [15] demonstraram a potencial contribuição da infiltração de macrófagos através dos altos níveis de expressão de CD45 e CD68 em TAE de pacientes com doença coronariana, sustentando o conceito de que os macrófagos desempenham um papel crucial na atividade inflamatória que conduz à aterosclerose.

A adiponectina é uma proteína sintetizada principalmente pelos adipócitos, embora existam relatos de outros sítios produtores (como os cardiomiócitos) [16]. Apresenta um papel protetor nos processos ateroscleróticos, com concentração reduzida em situações de resistência à insulina (tais como, obesidade e diabetes tipo 2), bem como nos portadores de doença arterial coronária [17-20].

Gomes et al. [21], em estudo histológico após biópsia adjacente de músculo cardíaco e da própria artéria coronária ao redor do stent, observaram intenso processo inflamatório agudo na íntima das artérias associado à miocardite.

Os resultados do nosso estudo demonstraram menor expressão de adiponectina no TAE obtido das áreas próximas ao stent quando comparadas àquelas obtidas em locais sem o dispositivo, em amostras do mesmo paciente.

Tabela 1. Correlação entre dados clínicos e resultados experimentais.

Caso	Sexo	Doenças associadas e hábitos					Amostras	Stent	Expressão Gênica Adiponectina
		DM	HAS	DLP	DPOC	Tabagismo			
EPI-2	M	-	+	+	-	+	D	-	0,90
EPI-3	M	+	+	+	+	+	E	+	0,84
EPI-6	M	-	+	+	-	+	D	-	0,73
EPI-7	M	-	+	+	-	+	E	+	0,81
EPI-8	F	+	+	+	-	+	D	-	0,95
EPI-9	M	-	+	+	-	+	E	-	0,83
EPI-10	M	-	+	+	-	-	D	+	0,58
EPI-11	F	+	+	+	-	-	E	+	0,88
EPI-12	M	-	+	-	-	+	D	-	0,84
EPI-13	M	-	+	+	-	+	E	+	0,71
EPI-14	M	-	+	-	-	-	D	-	3,49
							E	+	1,53
							D	-	0,60
							E	+	1,58
							D	+	1,39
							E	-	1,30
							D	-	1,32
							E	+	1,32
							D	-	1,77
							E	+	2,27
							D	+	1,42
							E	-	1,34

Apesar da inexistência de outros trabalhos analisando a expressão gênica da adiponectina no TAE após angioplastia percutânea com stent, Iacobellis et al. [2] observaram num grupo de 16 pacientes que o TAE em portadores de doença isquêmica do coração sintetiza menos adiponectina na comparação com grupo controle (sem doença isquêmica). Além disso, evidenciaram um aumento rápido na concentração plasmática dessa proteína logo após a operação para revascularização miocárdica, poderíamos assim extrapolar um efeito deletério associado à presença do stent intracoronário, comprovado pela expressão diminuída da adiponectina no TAE dos pacientes do estudo, porém essa afirmação necessitará de comprovação por outros trabalhos [22]. Trabalhos clínicos também sugerem que a presença do stent metálico pode comprometer de forma irreversível o endotélio da artéria coronária e agravar o processo inflamatório [23-25].

Esse estudo permitirá discutir se o tratamento da doença arterial coronariana por angioplastia percutânea com stent metálico promove alterações específicas na gordura epicárdica que, eventualmente, possam determinar diferentes rumos na evolução da doença.

As limitações deste estudo estão associadas à necessidade de maior número de amostras e confirmação estatística dos resultados obtidos. Além disso, encontram-se em desenvolvimento no nosso laboratório outros *primers* que irão permitir análise da expressão de outros marcadores de resposta inflamatória presentes no TAE (IL6, CD45, TNFalfa).

Em conclusão, na análise preliminar dos resultados, é possível verificar uma tendência, não confirmada estatisticamente, de que a expressão de adiponectina seja diminuída na amostra com stent em relação à amostra sem stent do mesmo paciente. A presença de stent metálico intracoronário não alterou a expressão gênica de adiponectina no TAE analisado de forma semiquantitativa nos pacientes com reestenose intrastent submetidos à RCM.

## REFERÊNCIAS

1. Gaspardone A, Versaci F. Coronary stenting and inflammation. Am J Cardiol. 2005;96(12A):65L-70L.
2. Iacobellis G, Pistilli D, Gucciardo M, Leonetti F, Miraldi F, Brancaccio G, et al. Adiponectin expression in human epicardial adipose tissue in vivo is lower in patients with coronary artery disease. Cytokine. 2005;29(6):251-5.
3. Sacks HS, Fain JN. Human epicardial adipose tissue: a review. Am Heart J. 2007;153(6):907-17.
4. Rabkin SW. Epicardial fat: properties, function and relationship to obesity. Obes Rev. 2007;8(3):253-61.
5. Ahima RS, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. Trends Endocrinol Metab. 2000;11(8):327-32.
6. Hutley L, Prins JB. Fat as an endocrine organ: relationship to the metabolic syndrome. Am T Med Sci. 2005;330(6):280-9.
7. Iacobellis G, Corradi D, Sharma AM. Epicardial adipose tissue: anatomic, biomolecular and clinical relationships with the heart. Nat Clin Pract Cardiovasc Med. 2005;2(10):536-43.
8. Cheng KH, Chu CS, Lee KT, Lin TH, Hsieh CC, Chiu CC, et al. Adipocytokines and proinflammatory mediators from abdominal and epicardial adipose tissue in patients with coronary artery disease. Int J Obes (Lond). 2008;32(2):268-74.
9. Eiras S, Teijeira-Fernández E, Shamagian LG, Fernandez AL, Vazquez-Boquete A, Gonzales-Juanatey JR. Extension of coronary artery disease is associated with increased IL-6 expression and decreased adiponectin gene expression in epicardial adipose tissue. Cytokine. 2008;43(2):174-80.
10. Iacobellis G, Cotesta D, Petramala L, De Santis V, Vitale D, Tritapepe L, et al. Intracoronary adiponectin levels rapidly and significantly increase after coronary revascularization. Int J Cardiol. 2010;144(1):160-3.
11. Mazurek T, Zhang L, Zalewski A, Mannion JD, Diehl JT, Arafat H, et al. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. Circulation. 2003;108(20):2460-6.
12. Iglesias MJ, Eiras S, Piñeiro R, López-Otero D, Gallego R, Fernández AL, et al. Gender differences in adiponectin and leptin expression in epicardial and subcutaneous adipose tissue. Findings in patients undergoing cardiac surgery. Rev Esp Cardiol. 2006;59(12):1252-60.
13. Baker AR, Silva NF, Quinn DW, Harte AL, Pagano D, Bonser RS, et al. Human epicardial adipose tissue expresses a pathogenic profile of adipocytokines in patients with cardiovascular disease. Cardiovasc Diabetol. 2006;5:1.
14. Wajchenberg BL. Subcutaneous and visceral adipose tissue: their relation to the metabolic syndrome. Endocr Rev. 2000;21(6):697-738.
15. Baker AR, Harte AL, Howell N, Pritlove DC, Ranasinghe AM, da Silva NF, et al. Epicardial adipose tissue as a source of nuclear factor-kappaB and c-Jun N-terminal kinase mediated inflammation in patients with coronary artery disease. J Clin Endocrinol Metab. 2009;94(1):261-7.
16. Piñeiro R, Iglesias MJ, Gallego R, Raghay K, Eiras S, Rubio J, et al. Adiponectin is synthesized and secreted by human and murine cardiomyocytes. FEBS Lett. 2005;579(23):5163-9.
17. Berg AH, Combs TP, Scherer PE. ACRP30/adiponectin: an adipokine regulating glucose and lipid metabolism. Trends Endocrinol Metab. 2002;13(2):84-9.

- 
18. Diez JJ, Iglesias P. The role of the novel adipocyte-derived hormone adiponectin in human disease. *Eur J Endocrinol.* 2003;148(3):293-300.
  19. Beltowski J. Adiponectin and resistin: new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Monit.* 2003;9(2):RA55-61.
  20. Fantuzzi G. Adipose tissue, adipokynes, and inflammation. *J Allergy Clin Immunol.* 2005;115(5):911-9.
  21. Gomes WJ, Gianotti Filho O, Catani R, Paez RP, Hossne NA, Buffolo E. Alterações inflamatórias das artérias coronárias e do miocárdio induzidas por stents coronários. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2002;17(4):292-8.
  22. Gomes WJ, Braile DM. Estudo Syntax: análise e implicações clínicas. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2008;23(4):III-IV.
  23. Gomes WJ, Buffolo E. Cirurgia de revascularização miocárdica após intervenção coronária percutânea. Podemos obter os mesmos resultados? *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2006;21(4):V-VIII.
  24. Fragomeni LSM, Falleiro RP, Hoppen G, Krahil G. Revascularização cirúrgica do miocárdio em pacientes com stents coronários. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2005;20(4):371-6.
  25. Gomes WJ, Buffolo E. Stent coronário e inflamação. *Rev Bras Cir Cardiovasc.* 2003;18(4):III-VI.