

Efeito do 17 β estradiol na remodelação vascular pós-angioplastia em artéria ilíaca de coelhas

17 β estradiol effect on the vascular response after iliac artery angioplasty of female rabbits

Patrícia Cabral Zacharias Serapicos¹, Christianne Guimarães Pereira Brazão Ferreira¹, Sofia Martins¹, Geanete Pozzan², Roberto Alexandre Franken³, Yoná Afonso Francisco⁴

Resumo

Introdução: Estudos experimentais sugerem que o estrógeno seja vasoprotetor em modelos animais de lesão vascular utilizando o cateter-balão, inibindo a proliferação celular da camada íntima, através de mecanismos ainda não totalmente estabelecidos. Em humanos, os efeitos do estrógeno incluem aumento da degradação de LDL colesterol, restauração pós-lesão do mecanismo vasodilatador dependente do endotélio, inibição da progressão da placa aterosclerótica, entre outros. Tais benefícios motivaram a Terapia de Reposição Hormonal (TRH) após menopausa, embora estudos recentes mostrem algum prejuízo. **Objetivo:** Avaliar o efeito do 17 β estradiol na remodelação vascular pós-angioplastia em artérias ilíacas de coelhas castradas, comparando com o grupo sem tratamento. **Material e métodos:** Coelhas fêmeas adultas castradas foram submetidas a tratamento diário de 50mg/dia de 17 β estradiol (grupo estradiol) ou óleo de amêndoas (grupo controle), por via subcutânea, 7 dias antes, até 14 dias após lesão de artérias ilíacas direitas com cateter-balão por angioplastia, sendo 14 animais pertencentes ao grupo estradiol e 15, ao grupo controle, num total de 29

coelhas. Após 14 dias da angioplastia, as coelhas foram sacrificadas por overdose de Thiopental a 20% e a artéria ilíaca direita (lesada), esquerda (não-lesada) e útero foram retirados e o útero pesado. Foram confeccionadas lâminas utilizando-se a coloração de Hematoxilina-eosina e Verhoff-van-Gieson e procedeu-se a análise morfométrica, em que, para cada secção de artéria, foram medidas área do lúmen, da camada média, da camada íntima e I/M ratio (razão íntimalmédica). Esses dados foram submetidos à análise estatística, em que valor de $P < 0,05$ foi considerado significativo. **Resultados:** A análise morfométrica mostrou que há aumento na área da camada íntima das artérias lesadas, o qual é reduzido nas coelhas tratadas com 17- β estradiol, com $P = 0,0015$. O valor do I/M ratio foi maior para o grupo controle quando comparados ao grupo estradiol, com $P = 0,0002$. O peso do útero das coelhas do grupo controle foi em média 5,86g, enquanto que no grupo estradiol, a média foi de 22,275g. **Conclusão:** O tratamento com 17 β estradiol diminuiu a proliferação das células musculares lisas da camada neoíntima nas artérias ilíacas lesadas pelo cateter-balão. Estudos posteriores são necessários para a compreensão dos mecanismos envolvidos. A média dos pesos dos úteros mostrou que o tratamento hormonal praticamente quadruplica o peso do útero, indicando ter sido efetivo.

Descritores: Angioplastia, Estrogênios, Terapia de reposição hormonal, Doenças cardiovasculares, Artéria ilíaca, Coelhos

Abstract

Introduction: Experimental studies suggest that estrogen has vasoprotective effect in animal models of vascular injury using catheter-balloon by inhibiting the myointimal proliferation through mechanisms not totally established. In human beings, the estrogens have direct vasoprotective effects, including enhancement of endothelial degradation of LDL cholesterol, the restoration of endothelium-dependent

¹ Acadêmicas do 5º Ano da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

² Professora Assistente da Disciplina de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

³ Professor Titular da Disciplina de Cardiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

⁴ Professora Assistente da Disciplina de Cardiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Trabalho realizado no Departamento de Cardiologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo e Departamento de Patologia da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Fundo de auxílio do PIBIC/CNPq – 2004/2005

Fundo de Auxílio à Pesquisa (FAP) da FCMSCSP

Correspondência: Patrícia Cabral Zacharias Serapicos. R. Barão de Jaceguai, 1154 ap.86 - São Paulo/SP - Brasil - CEP 04606-003. Tel: 8273-8907.

E-mail: patty_zacharias@yahoo.com.br

vasodilator mechanisms postinjury, the inhibition of the atherosclerotic lesion progression, among others. Such benefits motivated the Hormone Replacement Therapy (HRT) after menopause; even so recent studies show some risks. Objective: To contrast the effect of 17 β estradiol in the vascular response after angioplasty of iliac arteries from ovariectomized female rabbits, with the group without treatment. Materials and methods: Ovariectomized adult female rabbits were submitted to daily treatment of 50mg/day of 17 β estradiol (estradiol group) or almond oil (vehicle-treated group), with subcutaneous injection, 7 days before, up to 14 days after the procedure, being 14 animals from the estradiol group and 15 from the vehicle-treated group, in a total of 29 rabbits. They were killed 14 days after the angioplasty by overdose of Thyopenthal 20% and the right iliac artery (injured), left (non-injured) and uterus were removed and it was weighed. Tissue was stained with Hematoxilina-eosine and Verhoff-van-Gieson for morphometric analysis, and it was measured the lumen area, the medial area, the intimal area and the I/M ratio (intimal/medial ratio). These data had been submitted to the statistic analysis, in which P-value<0,05 was considered significant. Results: The morphometric analysis showed that there is a higher neointimal proliferation in the injured arteries, which is reduced in the rabbits treated with 17 β estradiol (P=0,0015). The value of the I/M ratio was higher for the vehicle-treated group in comparison to the estradiol group (P=0,0002). The weight of the uterus of the rabbits of the vehicle-treated group was in average 5,86g, while that in the estradiol group, it was 22,275g. Conclusion: The treatment with 17 β estradiol decreased the proliferation of smooth muscle cells in the neointimal layer of the iliac arteries injured by the catheter-balloon. Further studies are necessary for the comprehension of the involved mechanisms. The hormonal treatment practically quadruplicates the uterus' average weigh, indicating it was effective.

Keywords: Angioplasty, Estrogens, Hormone replacement therapy, Cardiovascular diseases, Iliac artery, Rabbits

Introdução

O advento da angioplastia coronária para o tratamento das obstruções das artérias coronárias na década de 80 representou grande avanço. Entretanto, a reestenose freqüente (cerca de 40 % dos casos nos primeiros seis meses) reduzia os benefícios alcançados pelo procedimento levando a novas intervenções que aumentavam a morbidade do procedimento⁽¹⁾.

O estudo histológico dessas lesões reestenóticas mostrou haver diferenças quando comparadas com as placas ateroscleróticas não tratadas por angioplastia; na reestenose há o espessamento da camada neoíntima. As fases de sua formação já estão bem identificadas graças a vários modelos experimentais (como em carótidas de ratos, artérias ilíacas de coelhos, coronárias de suínos)^(2,3).

Inicialmente, ocorre a apoptose maciça das células endoteliais e musculares lisas como resultado da lesão mecânica produzida pelo cateter-balão. Após 24 a 48 horas, segue-se infiltrado inflamatório, edema e proliferação da camada média arterial. Em uma semana, células oriundas da camada adventícia migram para formar a camada neoíntima, principal componente obstrutivo da lesão reestenótica, acompanhado por vasoconstricção. Este processo atinge o seu clímax em duas semanas, quando há redução máxima do diâmetro luminal da artéria associada à secreção de proteínas da matriz, especialmente colágeno, conferindo estabilidade e rigidez da lesão. Passados 28 dias, há diferenciação celular em células musculares lisas daquelas que migraram da camada adventícia acompanhado por apoptose que determina, por sua vez, qual será o diâmetro final do vaso. Esse processo denomina-se remodelação vascular^(3,4).

Tanto os processos inflamatórios quanto os proliferativos descritos são análogos aos processos fisiopatológicos das lesões vasculares encontradas na aterosclerose, na hipertensão arterial e no *diabetes mellitus*. Em comum, estas lesões possuem algumas características como a disfunção endotelial, a participação de espécies reativas de oxigênio e atividade inflamatória.

Desta forma, a lesão vascular com cateter balão se constitui num modelo experimental útil para o estudo destas condições.

Dispositivos de expansão intracoronários (*stents*) foram desenvolvidos com o intuito de reduzir a incidência de reestenose, porém as taxas de redução chegaram a atingir 26 a 30%⁽⁵⁾. Tais dispositivos passaram então a ser revestidos por drogas antiproliferativas com algum resultado, como a rapamicina, o paclitaxel e, mais recentemente, o estradiol^(6,7).

Desde a década de 50, observações epidemiológicas indicavam que o estradiol conferia certa proteção contra eventos cardiovasculares. Há vários estudos clínicos e epidemiológicos que evidenciam dimorfismo sexual das características da doença cardiovascular em humanos, atribuído aos efeitos vasoprotetores do estrógeno⁽⁸⁾.

Os efeitos vasoprotetores do estrógeno incluem o aumento da degradação endotelial de LDL - colesterol, ação oxidante em partículas de LDL no interior de macrófagos, supressão da síntese de

colágeno e elastina e restauração do mecanismo vasodilatador dependente do endotélio pós-lesão⁽⁹⁾, melhorando a função endotelial, além de inibir a formação da camada neointima das lesões mecânicas provocadas por cateter⁽³⁾. Estrógenos aumentam a atividade das metaloproteinases dose-dependentes, responsáveis pela degradação dos componentes da matriz extracelular, como colágenos e proteoglicanos, podendo estar envolvidos na diminuição da velocidade de progressão da placa aterosclerótica⁽¹⁰⁾.

O estrógeno tem efeito inibitório sobre a proliferação de células musculares em culturas de células inibindo a síntese e/ou deposição de elementos de matriz vascular no que contribui para o aumento da injúria, alterando a taxa de reendotelização de vasos lesados, além de inibir a resposta inflamatória na parede vascular lesada⁽¹¹⁾.

Os fibroblastos da camada adventícia têm aumento de proliferação em fase precoce pós – injúria da camada endotelial e média pelo cateter – balão em artéria carótida de ratos, como resultado da migração dessas células para o lúmen. Foi demonstrado que o estrógeno inibe esta migração⁽³⁾. O estrógeno aumenta a atividade e transcrição das NO sintases, aumentando a produção de NO cujos efeitos vasodilatadores são bem conhecidos⁽¹²⁾.

Estudos clínicos randomizados foram realizados para verificar se os resultados experimentais poderiam ser aplicados à clínica. Entretanto, estudos de Prevenção Secundária como os estudos HERS, Coronary Drug Project e o WHI mostraram que a terapia de reposição hormonal não foi eficaz para proteger, aumentando, inclusive, o risco para eventos tromboembólicos nos grupos de usuários do hormônio estrogênico^(10,13,14).

Objetivo

Avaliar o efeito do estradiol na remodelação vascular pós-angioplastia de artérias ilíacas de coelhas castradas, com e sem reposição hormonal.

Material e Métodos

Ooforectomia e tratamento hormonal

A primeira etapa foi a castração por via cirúrgica tradicional das coelhas, com anestesia intra-muscular de xilazina (5mg/kg) e quetamina (5mg/kg). Após a castração, as coelhas necessitaram de um período de 30 a 40 dias para que a angioplastia pudesse ser realizada.

Procedimento de lesão vascular por balão

Coelhas adultas, após no mínimo 30 a 40 dias da

castração, foram submetidas a tratamento hormonal com injeção subcutânea de estradiol, 50 μ g/dia, sete dias antes até catorze dias após lesão por hiperdistensão de artérias ilíacas direitas intactas com cateter-balão por angioplastia. (grupo *estradiol*) ou receberam 50 μ L/dia de óleo de amêndoas, via subcutânea.

A angioplastia foi feita com anestesia geral das coelhas com 3,7 ml de quetamina e 1,5 ml de xilazina e anestesia no local da incisão com 1,5 ml de xilocaína; incisão oblíqua de aproximadamente 3 cm no plano superior da artéria femoral direita, onde foi feito um pequeno corte para introdução do cateter-balão, após administração de 1ml/kg de heparina a 5%. Tal cateter era introduzido por 6 cm e o balão era insuflado com pressão de 8mmHg, por 30 segundos sendo esvaziado. Permanecia desinsuflado por 15 segundos, e o procedimento era repetido por três vezes em cada segmento até que toda a extensão da artéria ilíaca fosse lesada. Nesse modelo, a insuflação do balão lesa mecanicamente o endotélio e induz a migração e proliferação de células musculares lisas ao longo de toda a extensão da lesão. A artéria femoral direita foi ligada acima e abaixo do corte e os planos profundo e superficial, suturados, respectivamente, com fios *catgut* e de nylon 2-0. A artéria ilíaca esquerda não foi lesada e serviu como controle.

Após 14 dias da angioplastia, as coelhas foram sacrificadas com Thiopental a 20% e foi feita infusão na aorta abdominal de formol 4%, a 100 mmHg, por 20 minutos. As artérias (aorta abdominal, ilíaca direita e ilíaca esquerda) foram dissecadas e permaneceram no formol por sete dias. Em seguida, foram feitos seis cortes na ilíaca direita e três na ilíaca esquerda para posterior confecção de lâminas, análise morfológica e estatística das lâminas. Nesse procedimento, os úteros das coelhas foram retirados, dissecados e pesados (g).

Todos os procedimentos realizados com animais foram aprovados pelo Comitê de Ética da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo.

A análise de cortes histológicos arteriais foi feita com a coloração Hematoxilina-eosina e Verhoff-vanGieson para fibras elásticas, e enfocou-se a relação das áreas do lúmen, da camada íntima e da média, no Departamento de Patologia da F.C.M.S.C.S.P.

As lâminas foram fotografadas com a máquina digital Sony (modelo DSC-S85) em resolução de 1280 x 960, acoplada em microscópio óptico *Zeiss*, sob aumento de 50 vezes. Todas as lâminas foram medidas, utilizando-se o programa *Axion Vision 3.0 Zeiss*, padronizando-se as medidas com a mesma escala.

Para cada secção de artéria, foram realizadas três medidas: área da luz, área circunscrita à lâmina elástica interna e área circunscrita à lâmina elástica ex-

terna. A área da média foi calculada subtraindo-se a área circunscrita à lâmina elástica interna da área circunscrita à lâmina elástica externa. Similarmente, a área da íntima foi calculada subtraindo-se a área da luz da área interior à lâmina elástica interna. Todas as medidas foram realizadas em μm^2 e posteriormente convertidas em mm^2 para análise estatística.

A extensão da formação da neointima do vaso lesado foi expressa como área absoluta da neointima e a razão íntima/ média (I/M *ratio*).

Esses dados foram submetidos à análise estatística com teste T; $p < 0,05$ foi considerado significativo.

Resultados

Das 29 coelhas analisadas, 14 foram tratadas com estradiol (grupo estradiol; +E), com óbito de duas delas durante a pesquisa e 15 foram tratadas sem este hormônio (grupo controle; -E), com óbito de cinco delas. Foi excluído do trabalho material de três coelhas, por erro na preparação das lâminas e o material das sete últimas coelhas operadas não foi incluído na análise morfométrica, pois será utilizado para imuno-histoquímica futuramente.

Dessas lâminas analisadas, 24 são de artérias lesadas de coelhas que receberam tratamento hormonal (L, +E); 14 são de artérias não-lesadas, de coelhas que receberam o tratamento hormonal (NL, +E); 11, de artérias lesadas de coelhas que não receberam o tratamento hormonal (L, -E) e 14 de artérias não-lesadas de coelhas que não receberam o tratamento hormonal (NL, -E).

A análise morfométrica mostrou que há aumento na área da camada íntima das artérias lesadas, mas tal efeito é reduzido nas coelhas tratadas com 17- β estradiol. Essa variação na área da íntima pode ser

visualizada através das fotografias de lâminas apresentadas na Figura 3. Pela análise estatística, foi possível identificar que a área da íntima das artérias lesadas das coelhas tratadas com 17- β estradiol (L; +E) era significativamente menor que a área da íntima das artérias lesadas das coelhas do grupo controle (L; -E), apresentando $P=0,0015$. Os valores das áreas obtidas estão representados na Figura 1.

O valor do I/M ratio (Figura 2) também mostrou diferença significativa entre estes dois grupos, apresentando valores maiores para o grupo de artérias lesadas sem tratamento quando comparados ao grupo de artérias lesadas e tratadas, com $P=0,0002$.

A Figura 3 mostra cortes histológicos representativos dos grupos estudados.

Nos cortes de vasos não lesados (artéria esquerda), a camada íntima aparece como camada única de células musculares lisas, indicando que não houve proliferação celular. Por outro lado, a camada média é visualmente maior no grupo que recebeu tratamento estrogênico, sendo esse dado estatisticamente significativo (como já exposto), sugerindo ser esse um efeito sistêmico do 17 β estradiol.

A análise estatística também apresentou um resultado não esperado ao comparar os dois grupos de artérias não lesadas, com e sem tratamento (NL; +E vs. NL; -E). Tanto as áreas da luz como da média apresentaram-se significativamente menores no grupo sem tratamento ($P=0,0015$ e $P=0,0014$, respectivamente). Esse achado não é compatível com os dados de literatura encontrados e pode ser devido a limitações do método de morfometria.

No intra-operatório da cirurgia de sacrifício dos animais, observou-se que as coelhas tratadas com estradiol apresentavam peso uterino maior que aquelas do grupo controle.

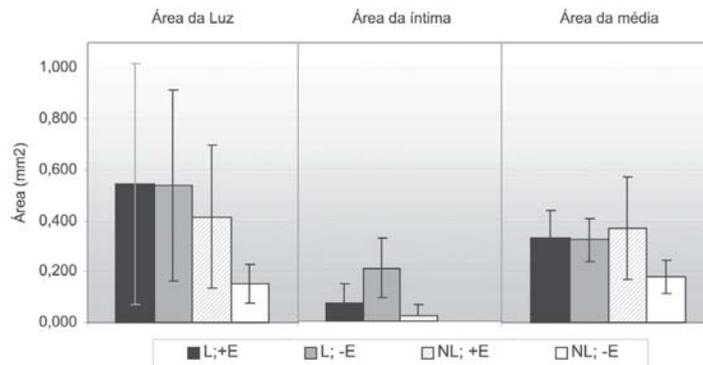


Figura 1 - Gráfico das áreas da luz, íntima e média, obtidas para os quatro diferentes grupos considerados: (L; +E) – Lesadas e tratadas; (L; -E) – Lesadas e não tratadas; (NL; +E) – Não Lesadas e tratadas; (NL; -E) – Não Lesadas e não tratadas. Valores expressos em média +/- desvio padrão.

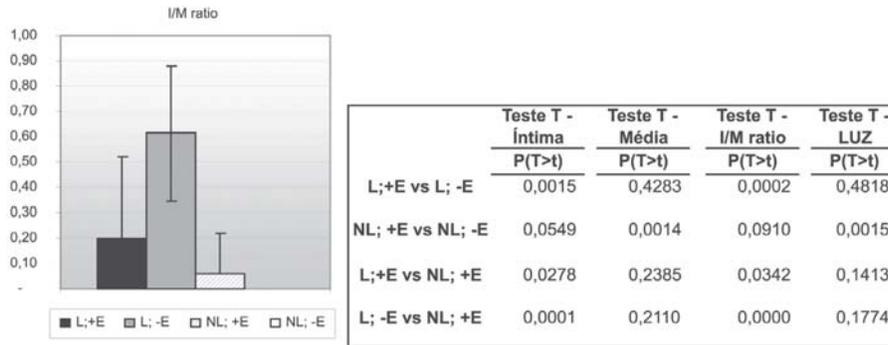


Figura 2 - Gráfico dos valores de I/M ratio, calculadas para os quatro diferentes grupos considerados, com valores da área expressos em média (mm²) +/- desvio padrão. À direita, tabela com valores de P para o teste t realizado nas comparações entre os quatro grupos considerados. Os testes comparam a área da íntima, da média, da luz e o I/M ratio.

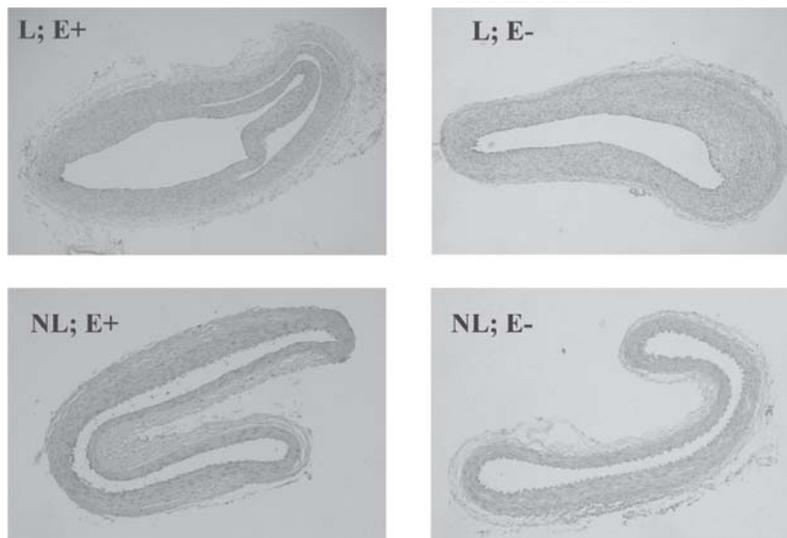


Figura 3 - Fotografia de lâminas da secção transversal das artérias de coelhas pertencentes aos quatro grupos analisadas: (L; +E) – Lesadas e tratadas; (L; -E) – Lesadas e não tratadas; (NL; +E) – Não Lesadas e tratadas; (NL; -E) – Não Lesadas e não tratadas.

A análise descritiva dos dados mostra que o útero das coelhas que não receberam estradiol pesou em média 5,860± 2,446g enquanto que o útero das coelhas que receberam estradiol pesou em média 22,275± 6,625g.

Discussão

O presente trabalho, visando estudar os efeitos do estradiol na remodelação vascular pós-lesão por angioplastia em artérias ilíacas de coelhas, mostrou que o tratamento hormonal diminuiu a proliferação celular da camada íntima na análise dos cortes histológicos.

Apesar de a amostra ser pequena, os achados corroboram com os dados de literatura que, em ensaios experimentais, apontam para o efeito vasoprotetor do estrógeno, atuando sobre a reendotelização, inibindo a migração e proliferação celular e prevenindo a reestenose.

A análise morfométrica das lâminas mostrou que a área camada íntima das artérias lesadas do grupo tratado, formada pela proliferação celular secundária à lesão vascular pós – angioplastia foi menor que a do grupo controle, sugerindo efeito inibitório do estrógeno sobre esse processo. Através da observação das lâminas, é possível afirmar que a espessura da camada neoíntima das artérias das coelhas trata-

das é menor que a das coelhas não tratadas, porém esse dado não foi medido. Quanto aos mecanismos desse efeito, não se pode comprová-los, mas estudos análogos mostram algumas teorias.

Sabe-se que o estrógeno inibe a proliferação de células musculares e parcialmente a resposta vasodilatadora-dependente do endotélio, através da ativação de um receptor de estrógeno específico que é expresso pelas células musculares lisas vasculares^(9,15).

O estrógeno em ratas inibiu a onda de migração de células da adventícia do vaso, que contribuem para a formação da camada neointima, o que sucede a lesão endoluminal pelo cateter – balão⁽³⁾. Embora o estrógeno estimule a liberação de óxido nítrico pela ativação das três isoformas da NO sintase, alguns trabalhos indicam que essa ação independe da expressão da NO sintase induzível (iNOS)^(8,11). Além disso, o estradiol inibe a ativação e migração de leucócitos para a camada da íntima arterial, em resposta à lesão endoluminal aguda causada pelo cateter – balão, sendo que a administração concomitante de medroxi-progesterona bloqueia o efeito protetor do estrógeno⁽¹⁶⁾.

O estudo que antecedeu a este analisou, pelo mesmo método, artérias ilíacas de coelhos machos em que o estrógeno aumentou a proliferação da camada neointima, à custa do aumento da expressão da iNOS⁽¹⁷⁾.

Nota-se pelos resultados, que não há diferenças significantes em relação à luz dos vasos. Isto ocorre, porque nesse processo de remodelação vascular, a área da luz se mantém, em detrimento do aumento da espessura do vaso lesado. Essa é uma das três maneiras reconhecidas de remodelação.

As artérias contra-laterais das coelhas sofreram o efeito sistêmico da reposição estrogênica, sendo que nos animais tratados, as artérias ilíacas não lesadas (esquerda) apresentaram aumento da camada média, tendência que já havia aparecido no trabalho preliminar⁽¹⁷⁾. Este dado é interessante já que é pouco relatado na literatura e pode ter efeitos hemodinâmicos de possível utilização clínica.

Estudos recentes em humanos utilizando stents com 17 β estradiol em angioplastia mostrou ser um método viável e seguro, apresentando baixa taxa de reestenose e revascularização nos seis meses após o procedimento⁽¹⁸⁾.

A análise comparativa do peso dos úteros das coelhas tratadas e não-tratadas com estradiol mostrou que as coelhas tratadas apresentavam peso do útero maior que as coelhas não-tratadas com $P << 0,01$, sendo que a média de todos os valores praticamente quadruplica com o uso do hormônio. Esse dado é de grande relevância, pois é medida indireta de que o tratamento hormonal foi efetivo e sistêmico. Em vários estudos, é feita a medida direta da dosa-

gem hormonal a partir do sangue coletado do animal após sacrifício^(8, 9, 11,12).

O tratamento com estradiol diminuiu a proliferação das células musculares lisas que formam a camada neointima em artérias ilíacas lesadas por cateter-balão de angioplastia em coelhas ooforectomizadas. Estudos posteriores se fazem necessários para a compreensão dos mecanismos envolvidos.

Agradecimentos

Prof. Dr. Roberto Saad Jr - Professor titular da Disciplina de Cirurgia Torácica da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Janaína de Pádua Borges – Farmacêutica da Unidade de Técnica Cirúrgica e Cirurgia Experimental (UTECE) – Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo

Referências bibliográficas

1. Serruys PW, Degertekin M, Tanabe K, Russell ME, Guagliumi G, Webb J, et al. Vascular responses at proximal and distal edges of paclitaxel-eluting stents: serial intravascular ultrasound analysis from the TAXUS II Trial. TAXUS II Study Group. *Circulation* 2004; 109: 627-33.
2. Chandrasekar B, Tanguay JF. Local delivery of 17 beta-estradiol decreases neointimal hyperplasia after coronary angioplasty in porcine model. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 1972-8.
3. Oparil S, Chen SJ, Chen YF, Durand JN, Allen L, Thompson JA. Estrogen attenuates the adventitial contribution to neointima formation in injured rat carotid arteries. *Cardiovasc Res* 1999; 44: 608-14.
4. Azevedo LCP, Pedro MA, Souza LC, Souza HP, Janizewski M, da Luz P, et al. Oxidative stress as a signaling mechanism of the vascular response to injury: The redox hypothesis of restenosis. [Review] *Cardiovasc Res* 2000; 47:436-45.
5. New G, Moses JW, Roubin GS, Leon MB, Colombo A, Iyer SS, et al. Estrogen-eluting, phosphorylcholine-coated stent implantation is associated reduced neointimal formulation but no delay in vascular repair in a porcine with coronary model. [Review] *Catheter Cardiovasc Interv* 2002; 57:266-71.
6. Gorodeski G, Yang T, Levy MN, Goldfarb J, Utian WH. Effects of estrogen in vivo on coronary vascular resistance in perfused rabbit hearts. *Am J Physiol* 1995; 269 (6 pt. 2): R1333-8.
7. Serruys PW, de Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heydrickx G, et al. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group *N Engl J Med* 1994; 331: 489-95.
8. Tolbert T, Thompson JA, Bouchard P, Oparil S. Estrogen-induced vasoprotection is independent of inducible nitric oxide synthase expression: evidence from the mouse carotid artery ligation model. *Circulation* 2001; 104: 2740-5.
9. Chen SJ, Li H, Durand J, Oparil S, Chen YF. Estrogen reduces myointimal proliferation after balloon injury of carotid artery. *Circulation* 1996; 93: 577-84.
10. Collins P. Clinical cardiovascular studies of hormone replacement therapy. [Review] *Am J Cardiol* 2002; 90 (1A): 30f-34f.
11. Sullivan TR Jr, Karas RH, Aronovitz M, Faller GT, Ziar JP, Smith JJ, et al. Estrogen inhibits the response-to-injury in a mouse carotid artery model. *J Clin Invest* 1995; 96: 2482-8.

12. White CR, Shelton J, Chen SJ, Darley-USmar V, Allen L, Nabors C, et al. Estrogen restores endothelial cell function in an experimental model of vascular injury. *Circulation* 1997; 96: 1624-30.
13. Blakely JA. The heart and estrogen/progestin replacement study revisited. Hormone replacement therapy produced net harm, consistent with the observational data. *Arch Intern Med* 2000; 160: 2897-900.
14. Hulley S, Grady D, Bush T, Furberg C, Herrington D, Riggs B, et al. Randomized trial of estrogen plus progestin for secondary prevention of coronary heart disease in postmenopausal women. Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS) Research Group. *JAMA* 1998; 280: 605-13.
15. Bakir S, Mori T, Durand J, Chen YF, Thompson JA, Oparil S. Estrogen-induced vasoprotection is estrogen receptor dependent. *Circulation* 2000; 101:2342-4.
16. Xing D, Miller A, Novak L, Rocha R, Chen YF, Oparil S. Estradiol and progestins differentially modulate leukocyte infiltration after vascular injury. *Circulation* 2004; 109: 234-41.
17. Francisco YA, Dantas APV, Carvalho MHC, Laurindo FRM. Estrogen enhances vasoconstrictive remodeling after injury in male rabbits. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 1325-9.
18. Abizaid A, Albert M, Costa MA, Abizaid AS, Staico R, Feres F, et al. First human experience with the 17-beta-estradiol-eluting stent: The Estrogen and Stents to Eliminate Restenosis (EASTER) trial. *J Am Coll Cardiol* 2004; 43: 1118-21.

Data de recebimento: 23/09/2005

Data de Aprovação: 05/10/2005