

Instituto Nacional de Angiología y Cirugía Vascular

EVALUACIÓN DE UN POSIBLE MODELO EXPERIMENTAL DE ATEROSCLEROSIS CAROTÍDEA EN CONEJOS HIPERCOLESTEROLÉMICOS

Dra. María Antonia Alfonso Valiente, Dra. Gisela Almeida Carralero, Lic. Ana María Quintela Pena y Lic. Rafael Simón Carballo

RESUMEN

Se evaluó la utilidad de un procedimiento experimental para desarrollar aterosclerosis carotídea en conejos. Se estudiaron 18 animales divididos en 3 grupos, con 6 animales cada uno. Los animales fueron alimentados mediante pienso suplementado con 0,5 y 1 % de colesterol (grupos I y II, respectivamente), en tanto el III (control) solo con pienso. Se hicieron determinaciones bioquímicas antes de comenzar el experimento y en las semanas 4, 8 y 12, posteriores a la dieta. Se observó un aumento significativo en el peso de los animales de los grupos I y II en la semana 8 para $p < 0,05$, se mantuvieron sin variaciones la hemoglobina y el hematócrito. El colesterol mostró un incremento significativo para los grupos I y II a partir de la semana 4 hasta el final. El estudio morfométrico dio como resultado que en los animales del grupo II en ambas carótidas había presencia de estrías adiposas, lo que demostró la utilidad de este modelo de aterosclerosis carotídea.

DeCS: MODELOS ANIMALES DE ENFERMEDAD; CONEJOS; HIPERCOLESTEROLEMIA/veterinaria; ANIMALES DE LABORATORIO; ATROSCLEROSIS CEREBRAL/veterinaria.

La aterosclerosis constituye la primera causa de morbilidad y mortalidad en Cuba y en muchos países del mundo,¹⁻⁴ y sus consecuencias se presentan en todos los órganos y tejidos, en muchas ocasiones es el resultado de estas lesiones fatales. Por su importancia se distinguen 3 sectores vasculares donde la lesión aterosclerótica es más grave que son el vascular coronario, el periférico y el carotídeo.

La importancia del estudio de las enfermedades cerebrovasculares es que en dependencia del grado de extensión y loca-

lización de las placas de ateroma en el nivel del vaso, así será la repercusión socioeconómica en el individuo, y puede llegar hasta una invalidez total.⁵⁻⁷

La hipercolesterolemia experimental ha sido objeto de estudio durante muchos años en varios países, incluida Cuba, y se ha comprobado que esta se acompaña de una incidencia aumentada de cardiopatía isquémica, se evidencia que además guarda una estrecha relación con la gravedad de la aterosclerosis.⁸⁻¹¹

Se valoró en este trabajo el criterio de que resulta muy importante para las investi-

gaciones experimentales poder contar con un modelo de aterosclerosis carotídea, que permita evaluar algunas alternativas terapéuticas. El propósito del estudio era determinar el nivel de afectación aterosclerótica de las arterias carótidas en conejos hipercolesterolémicos y determinar su posible efecto sobre el estado de salud del animal.

MÉTODOS

Se emplearon 18 conejos Nueva Zelanda blancos clínicamente sanos procedentes del Centro Nacional para Animales de Laboratorio (CENPALAB), con un peso promedio de 2,4 kg, que fueron ubicados en jaulas individuales, mantenidos con luz natural y a temperatura ambiente, y alimentados en horas de la mañana con 100 g de pienso normal. Los animales fueron divididos de forma aleatoria en 3 grupos de 6 animales cada uno de la forma siguiente:

Grupo I: alimentados con pienso suplementado con colesterol 0,5 % durante 12 semanas.

Grupo II: alimentados con pienso suplementado con colesterol 1 % durante 12 semanas.

Grupo III: Grupo control. Alimentados con pienso normal.

Toma de la muestra

Se pesaron todos los animales y se realizaron extracciones de sangre de 10 mL de la vena marginal de la oreja a cada animal antes de comenzar la investigación y cada 4 semanas hasta llegar a la semana 12 para la determinación de hemoglobina (Hb), hematócrito (Hto) y colesterol. Se observó diariamente el estado de salud del animal. Los parámetros peso, Hb, Hto y colesterol fueron expresados en valores de $X \pm DE$.

Una vez concluido el experimento todos los animales fueron sacrificados por de sangramiento. Se extrajeron ambas carótidas para el estudio morfológico y morfométrico de las lesiones ateroscleróticas que aparecían en este sector vascular para compararlas con el grupo control. De igual forma se estudió la aorta torácica de todos los casos para corroborar el establecimiento de las lesiones ateroscleróticas y poder comparar con respecto a las encontradas en las carótidas.

Una vez obtenidas las arterias se lavan con solución salina y se fijan en formol 10 % hasta su estudio morfométrico, con el uso del método de *Holman*¹⁰ y se colorean con Sudán IV.

Según el grado de las lesiones presentes en cada caso estas se clasificaron en: estrías adiposas, placas fibrosas y placas graves complicadas o calcificadas.

El estudio cuantitativo de las lesiones ateroscleróticas se realizó de forma computarizada mediante un digitalizador MYPAD-A3, modelo K 510 mk² acoplado a una microcomputadora NEC PC 8201. Con el *mouse* del digitalizador se recorren los contornos de las áreas delimitadas en el análisis cualitativo, así como la longitud del sector vascular en análisis, y se obtienen las áreas en mm².

El análisis estadístico del peso y las variables bioquímicas con respecto al valor inicial se efectuó mediante el uso del paquete estadístico *Microstat* (ECOSOFT-1984) en cada una de las semanas en que se realizó el estudio.

RESULTADOS

La tabla 1 muestra el comportamiento del peso en los animales estudiados y se puede observar su aumento en todos los grupos en la medida en que transcurre el tiempo de experimento, resultó significativo ($p < 0,05$) para los grupos I y II a partir de la semana 8 con respecto al valor inicial.

Para los animales del grupo II el incremento en el peso resultó también estadísticamente significativo a partir de la semana 8 con respecto al grupo control para el mismo tiempo, para $p < 0,05$.

Los valores de hemoglobina (Hb) y hematócrito (Hto) presentaron niveles similares durante todo el experimento independientemente del grupo (tablas 2 y 3).

Los niveles de colesterol encontrados en todos los grupos se reflejaron en la tabla 4. El grupo control no mostró variación en los niveles de colesterol, en tanto se encontraron niveles significativamente elevados de este parámetro para los grupos I y II en la semana 4, para $p < 0,05$ en el grupo I y $p < 0,001$ en el grupo II.

Al comparar los niveles de colesterol entre los grupos de estudio se puede obser-

var un valor muy superior en los animales del grupo II, con respecto a los del grupo I en la semana 4; con un nivel de significación de $p < 0,001$.

Los estudios morfométricos evidenciaron la presencia de estrías adiposas en las arterias estudiadas en tanto se observó solo presencia de placas fibrosas en la aorta de 2 animales del grupo II, las carótidas estaban exentas de este tipo de lesión. En la tabla 5 se exponen los valores de superficie relativa de estrías adiposas. De los animales del grupo I, solo 2 de ellos presentaron lesiones de aterosclerosis en la carótida, en tanto en todos los integrantes del grupo II se pone de manifiesto este tipo de lesión. Se notó que la afectación en las carótidas era muy similar en todos los casos del grupo II.

TABLA 1. *Comportamiento del peso en los grupos estudiados antes y durante la investigación. Valores en kg*

Grupos	Antes	4 semanas	8 semanas	12 semanas
I	2,33 ± 0,1	2,45 ± 0,1	2,62 ± 0,1*	2,77 ± 0,2
II	2,40 ± 0,2	2,85 ± 0,2	3,02 ± 0,2**	3,23 ± 0,2
III	2,40 ± 0,2	2,48 ± 0,2	2,58 ± 0,2	2,70 ± 0,2

* $p < 0,05$ con respecto al valor inicial, ** $p < 0,05$ con respecto al grupo control.

TABLA 2. *Comportamiento de la hemoglobina de los grupos estudiados antes y durante la investigación. Valores expresados en g/L*

Grupos	Antes	4 semanas	8 semanas	12 semanas
I	12,3 ± 0,8	12,2 ± 0,9	12,2 ± 0,1	12,3 ± 0,9
II	12,2 ± 0,9	12,1 ± 0,2	12,3 ± 0,2	12,2 ± 0,2
III	12,2 ± 0,8	12,2 ± 0,2	12,2 ± 0,2	12,2 ± 0,3

TABLA 3. *Comportamiento del hematócrito antes y durante el experimento*

Grupos	Antes	4 semanas	8 semanas	12 semanas
I	0,35 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,01
II	0,37 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,36 ± 0,01
III	0,35 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,36 ± 0,01	0,35 ± 0,01

TABLA 4. Comportamiento del colesterol antes y durante el experimento. Valores expresados en mmol/L

Grupos	Antes	4 semanas	8 semanas	12 semanas
I	2,03 ± 0,33	14,2 ± 1,5	19,8 ± 2,2	27,03 ± 0,8
II	2,06 ± 0,36	34,2 ± 7,1** ^a	38,01 ± 6,7	40,22 ± 7,9
III	2,07 ± 0,37	2,07 ± 0,33	2,05 ± 0,33	2,05 ± 0,33

* Con respecto al valor inicial p < 0,05, ^a con respecto al valor inicial p < 0,001, + comparación entre los grupos I y II p < 0,001.

TABLA 5. Valores en porcentajes de superficie relativa de estrias adiposas

Grupo	Aorta	Carótida derecha	Carótida izquierda	Grupo	Aorta derecha	Carótida izquierda	Carótida
I	29	0	0	II	44	10	14
I	10	0	0	II	58	8	5
I	26	13	10	II	39	7	5
I	15	0	0	II	30	6	7
I	39	9	6	II	29	4	6
I	14	0	0	II	40	4	3

DISCUSIÓN

Se plantea que la administración de una dieta rica en colesterol promueve un aumento del peso de los animales que la reciben y este puede ser mayor en la medida en que se alargue dicha administración o su contenido de colesterol,¹ lo que se corresponde con los resultados de este trabajo.

Estudios realizados por *Herrera* y otros (datos no publicados) no reportan alteraciones en los niveles de Hb y Hto en relación con la ingestión de una dieta suplementada con colesterol, esto coincide con lo encontrado en el presente trabajo.

Con respecto al colesterol se esperaba un incremento de sus niveles en relación con la dieta hipercolesterolémica que recibieron los animales de los grupos I y II,¹² para coincidir con los resultados encontrados por *Ramos* y otros (datos no publicados) y *Moredy* otros.¹³

Las lesiones ateroscleróticas son más frecuentes en la aorta que en el sector

carotídeo, los resultados encontrados aquí resultaron iguales a los planteados por *Asada*,⁸ No obstante llama la atención que en el grupo II todos los conejos presentaron manifestaciones de lesión aterosclerótica carotídea, mientras que en los del grupo I, solo 2 de ellos mostraron esta lesión, por lo que ha sido probado que la hipercolesterolemia experimental mantenida es capaz de desarrollar lesiones ateroscleróticas en carótida. Esto fue mostrado por el estudio morfométrico realizado al final de la experiencia, donde en todos los animales del grupo II hay presencia de estrias adiposas similares en ambas carótidas.

De acuerdo con estos resultados se puede plantear que las condiciones de hipercolesterolemia logradas en los conejos con dieta suplementada con 1 % de colesterol durante 12 semanas, constituye un modelo útil para desarrollar aterosclerosis carotídea, el cual brinda la posibilidad de estudiar en un futuro alternativas terapéuticas en el campo experimental.

Se concluye que el modelo utilizado aquí resultó útil para el desarrollo de aterosclerosis carotídea en conejos a partir de una dieta hipercolesterolémica.

SUMMARY

The advantages of an experimental procedure to develop carotid atherosclerosis in rabbits were evaluated. Eighteen animals distributed into 3 groups, 6 animals each, were examined. Animals were fed with fodder supplemented with 0.5 and 1% of cholesterol (group I and II respectively) whereas group 3 (control) was given only fodder. Biochemical determinations were performed before the experiments and at weeks 4, 8 and 12 after the dietary treatments. The animals' weight in groups I and II had significantly increased by the 8th week for a $p < 0,05$; hemoglobin and hematocrit values remained unchanged. Cholesterol substantially increased in groups I and II from the 4th week on. The morphometric study revealed that there were fatty streaks in both carotids of animals included in group 2, which proved the benefits of this experimental model of carotid atherosclerosis.

Subject headings: DISEASE MODELS, ANIMALS; RABBITS; HYPERCHOLESTEROLEMIA/veterinary; ANIMALS LABORATORY; CEREBRAL ATHEROSCLEROSIS/veterinary.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Harrison DG, Ohara Y. Physiologic consequences of increased vascular oxidant stress in hypercholesterolemia and atherosclerosis implication for impaired vasomotion. *Am J Cardiol* 1995;75:75B-81B.
2. Kajura N, Ayudhyar A. Effect of isradipine on the formation and regression of fatty streaks in cholesterol fed rabbits. *Res Cardiovas* 1994;28(2):1089-93.
3. Soma M, Donetti R. Recombinant apolipoprotein A 1 milano demur inhibits carotidea intimate thickening induced by perivascular manipulation in rabbits. *Circ Res* 1995;76(3):405-11.
4. Teoh M, Chong K. Protection by tocotrienols against hypercholesterolemia and atheroma. *Med J Mamasya* 1994;49(3):255-62.
5. Fenessy PA. Angiotensin converting enzyme inhibition perindrope prevents progression of performed atherosclerosis lesion in the cholesterol fed. rabbits *Clerosis (colch)* 1994;87(6):685-91.
6. Gotto AM. Regression of atherosclerosis. *Am J med* 1981;70:989-93.
7. Kramer JR, Matsuda Y. Progression of coronary atherosclerosis. *Circulation* 1981;63:519-22.
8. Asada Y. Suramen inhibits intimate thickening following intimate injury in the rabbit aorta in vivo. *Cardiovasc res* 1994;28(8):1166-9.
9. Lafont AM. Effect of alpha.tocopherol on restenosis after angioplasthy in a model of experimental atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995;95(3):1018-25.
10. Holman RY. An index for the evaluation of atherosclerosis lesion in the abdomen aorta. Report by the Commute on lesion of the American Soc Study *Aths Cir* 1960;28:1137-40.
11. Gregg DE, Patterson RC. Functional importance of the coronary collaterals. *N Engl J Med* 1980;303:1404-7.
12. Gimbrone MA. Vascular endothelium and atherosclerosis. In Moore S. *vascular injury and atherosclerosis*. New York dekher 1981;25-52.
13. Mored DO, Treatment of cholesterol fed rabbits with dictory vitamins E and C inhibits lipoprotein oxidation but no development of atherosclerosis. *J Nutr* 1994;11:2123-30.

Recibido: 4 de marzo de 1999. Aprobado: 25 de septiembre de 1999.

Dra. *María Antonia Alfonso Valiente*. Calzada del Cerro No. 1551, esquina a Domínguez, Cerro, Ciudad de La Habana, Cuba. E-mail: experim@infomed.sld.cu