

TRABAJOS ORIGINALES

INVESTIGACIONES SOBRE ATEROSCLEROSIS EXPERIMENTAL Y SU PATOGENIA EN EL HOMBRE *

por los doctores

B. MOIA y M. R. MALINOW

La aterosclerosis es una enfermedad degenerativa de la íntima arterial que constituye el mayor factor de mortalidad entre la población adulta del mundo occidental, así como una de las causas más frecuentes de invalidez crónica. La importancia médica de esta afección es, pues, considerable justificándose por consiguiente las numerosas investigaciones que sobre la misma se realizan. Sin embargo, pese al sinnúmero de experiencias referidas, los mecanismos que intervienen en la producción de la aterosclerosis humana son hasta el momento desconocidos.

Durante los últimos seis años, en el Pabellón de Cardiología "Luis H. Inchauspe", se han realizado investigaciones originales sobre la aterosclerosis tendientes sobre todo a aclarar su patogenia. En esta comunicación se expondrán los resultados experimentales hasta la fecha, así como una hipótesis de trabajo que conceptuamos útil para la comprensión del problema de la aterosclerosis en el hombre. Siendo la bibliografía existente sumamente extensa, referimos al lector a nuestros artículos originales.

Puesto que las investigaciones en este campo deben necesariamente ser efectuadas en el terreno experimental, el primer problema que se nos planteó fué el de la elección del animal apropiado para estos estudios. Hasta 1950, fecha en que comenzamos nuestras experiencias, se utilizaba preferentemente el conejo y el pollo, pero la investigación en cualquiera de ellos es objetable por ser el primero un herbívoro no acostumbrado a metabolizar normalmente el colesterol y por ser el segundo, un ave posiblemente alejada metabólicamente del hombre, mamífero omnívoro. Se pensó entonces en utilizar un mamífero omnívoro eligiéndose la rata, animal de la-

* Pabellón de Cardiología "Luis H. Inchauspe". Hospital Ramos Mejía, Buenos Aires. Jefe: Prof. Blas Moia.

boratorio de fácil manejo, aunque considerado hasta entonces como inmune al desarrollo de aterosclerosis. Este hecho, de ser cierto, hubiera tenido suma importancia para conocer los factores vinculados con la resistencia a la aparición de estas lesiones arteriales.

El primer factor a determinar era, pues, si la aceptada inmunidad de la rata hacia la aterosclerosis era debida a un mecanismo vascular local o metabólico general. Con este objeto se desarrolló un método para estudiar segmentos arteriales parcialmente aislados del resto de la circulación y en el cual se pudieran inyectar distintas sustancias¹. Para ello se aislaron las arterias femorales de ratas por doble ligadura y se sacrificaron los animales después de lapsos variables. Se comprobó así que estos segmentos arteriales estaban en relación con el resto del organismo puesto que, 1) no se necrosaban, 2) sus células proliferaban y 3) colorantes inyectados endovenosamente teñían las células del segmento ligado¹. En los animales sacrificados después de dos o tres semanas, se pudo comprobar la aparición de fibrosis, es decir, que se llegó a la conclusión que las paredes arteriales de la rata eran capaces de mostrar cuadros histológicos parecidos a los de *arteriosclerosis*, en forma semejante a la arteriosclerosis por desuso que se observa normalmente en el ser humano, en las arterias umbilicales, uterinas, ductus arteriosus, etc. Estudios semejantes habían sido ya efectuados en otras especies con resultados similares (ver bibliografía en ¹). Sin embargo, el cuadro histológico así provocado no era semejante a las lesiones de *aterosclerosis*, lesión predominante de la íntima en la que existe un depósito importante de sustancias grasas, especialmente de colesterol. Se procedió entonces a inyectar en estos segmentos arteriales "aislados" distintas suspensiones de colesterol, sacrificando también los animales escalonadamente y los resultados obtenidos permitieron obtener lesiones semejantes a las de aterosclerosis descritas en otras especies, observándose así por primera vez estas imágenes en la rata². Los estudios histoquímicos permitieron estudiar no sólo el depósito y remoción del colesterol en las paredes arteriales³ sino también la acumulación, entre las células proliferadas, de glucoproteínas, mucopolisacáridos y de fibrillas de reticulina, colágena y elástica^{1, 2}.

Nuestros hallazgos, al demostrar la existencia de lesiones de aterosclerosis localizada en la rata, descartaron la importancia del factor vascular local en la hasta entonces aceptada resistencia de

este animal e hicieron buscar la causa de la aparente inmunidad en mecanismos generales del organismo.

Se sometió entonces a ratas a la influencia simultánea de situaciones experimentales que en otras especies se habían demostrado con poder aterogénico, es decir, hipotiroidismo, hipertensión nefrógena y alimentación rica en grasas y en colesterol. Las ratas sometidas a estas influencias fueron estudiadas minuciosamente y se pudo comprobar en estas condiciones la presencia histológica de lesiones de aterosclerosis en distintos territorios arteriales, especialmente, en las arterias intercostales, coronarias, renales, carótidas, etc.⁴. Estos resultados fueron confirmados por otros investigadores empleando distintos métodos⁵.

Se trató entonces de determinar si era imprescindible la conjunción de perinefritis e hipotiroidismo en ratas alimentadas con dietas ricas en aceite vegetal y en colesterol para la aparición de aterosclerosis generalizada. Para ello se estudiaron los siguientes factores, en otros tantos grupos de ratas⁶: 1) controles; 2) hipotiroidismo inducido por metiltiouracilo; 3) dieta rica en aceite vegetal; 4) dieta rica en aceite y en colesterol; 5) perinefritis por celofán; 6) hipotiroidismo y dieta rica en colesterol; 7) hipotiroidismo y dieta rica en aceite y colesterol; 8) hipotiroidismo y perinefritis por celofán; 9) perinefritis y dieta rica en colesterol; 10) perinefritis y dieta rica en aceite; 11) perinefritis y dieta rica en aceite y colesterol; 12) perinefritis, hipotiroidismo y dieta rica en aceite y, 13) como el grupo anterior más el agregado de colesterol. Se tomaron de 2 a 6 animales de cada grupo y se practicaron numerosos cortes histológicos, estudiándose aproximadamente 25.000 cortes arteriales en 40 animales, con un promedio de 638 por rata.

Se observaron lesiones infiltrativas y proliferativas de la íntima arterial en prácticamente todos los grupos estudiados y, a pesar de que no se realizó un estudio cuantitativo por ser pequeño el número de animales elegido, se demostró, sin embargo, que existen numerosos procedimientos para provocar las lesiones de aterosclerosis generalizada en la rata; al mismo tiempo, se probó también que ninguno de los factores estudiados es de por sí imprescindible para el desarrollo de estas lesiones.

Otra conclusión importante que surgió de los resultados, es que no existe relación entre hipercolesterolemia y el desarrollo de las

lesiones de aterosclerosis, en contraposición al resto de los estudios experimentales en los que, generalmente, las lesiones arteriales se asociaron a elevada hipercolesterolemia; en el hombre es sabido la independencia que existe, en muchísimos casos, entre los niveles sanguíneos y el desarrollo de aterosclerosis. El mismo estudio permitió también suponer que las lesiones arteriales podrían encontrarse aun en ratas normales ⁷.

Posteriormente se concentró la investigación en aquellas situaciones que pudieran acercarse más a la clínica humana. Se realizaron entonces estudios más extensos en dos grupos de ratas: con hipertensión nefrótica y con dietas ricas en aceite vegetal, debido a la relación que existe aparentemente en patología, entre la aterosclerosis, la hipertensión arterial y las dietas hipergrasas ⁸. Los resultados obtenidos en estos estudios mostraron que tanto la perinefritis como la administración de aceite vegetal constituyen estímulos aterogénicos, siendo el primero más potente que el segundo. Se pudo también demostrar la diferente distribución de las lesiones arteriales, predominando en unas ratas las lesiones en las colaterales aórticas y en otras, en las coronarias. No existió tampoco hipercolesterolemia en estas ratas. Por último, se demostraron lesiones en la íntima de la aorta misma, localización ésta que no había sido observada ni aún por los investigadores que también describieron últimamente lesiones ateroscleróticas en la rata ⁹.

Recientemente, un estudio minucioso realizado en los animales normales de nuestra colonia nos ha permitido describir, también por primera vez en la literatura, lesiones de aterosclerosis espontánea en la rata ¹⁰. Ello nos ha llevado a tratar de establecer los motivos por los cuales estas lesiones no habían sido reconocidas con anterioridad y suponemos que la causa reside en que son necesarios estudios muy minuciosos para encontrarlas, dado el tamaño microscópico que las mismas adquieren en los pequeños vasos de la rata.

Actualmente se prosiguen las investigaciones tratando de establecer la influencia que sobre el desarrollo de la aterosclerosis de la rata posee el sexo, la inyección de estrógenos, la obesidad y la alimentación con distintas grasas animales y vegetales ¹¹.

La experiencia así recogida a través de estos años ¹¹ ha permitido finalmente, establecer una hipótesis de trabajo para explicar la génesis de la aterosclerosis que, además de estar de acuerdo con

nuestros resultados y los de otros investigadores, puede también ser aplicada al ser humano ¹³.

La patogenia de la aterosclerosis en el hombre: Una hipótesis de trabajo. — En el hombre, la aterosclerosis puede observarse en tres circunstancias distintas: 1) en algunas enfermedades cuyo aparente nexa causal es una marcada hipercolesterolemia, como la hipercolesterolemia familiar, la idiopática, el hipotiroidismo, la diabetes, etc.; 2) en los territorios arteriales sometidos a presión elevada, tanto en el sistema general, como en el pulmonar, pudiendo en ambas circunstancias encontrarse aún cuando los aumentos de presión sean localizados, y, 3) en enfermos en los que no existe ni hipercolesterolemia ni hipertensión arterial. En definitiva, pues, no existe en el hombre un factor unívoco para explicar la génesis de la aterosclerosis. Hay que reconocer, sin embargo, que la mayoría de las investigaciones actuales provocan aterosclerosis mediante la ingestión anormal de elevadas cantidades de colesterol en distintas especies (para la bibliografía consúltese ^{13, 15}): 1) en el conejo, que ha sido el animal empleado por excelencia, dada la facilidad con que se provocan estas lesiones, pero que ha sido severamente criticado por ser una especie herbívora no habituada a metabolizar grandes cantidades de colesterol; 2) en el pollo, animal que a diferencia del anterior es omnívoro y que, por consiguiente, cuenta con un mecanismo más eficaz para metabolizar el colesterol; 3) en el perro, asociándolo a dietas pobres en aminoácidos sulfurados; 5) en el cobayo, administrándolo con leche, y, 6) recientemente en la rata por nosotros, combinando la ingestión de colesterol con la administración de metiltiouracilo o con la producción de perinefritis por celofán ⁷.

Los estudios así orientados han contribuido a nuestro mayor conocimiento de la aterosclerosis experimental, pero desgraciadamente los resultados no pueden ser trasladados a la clínica, porque en el hombre la aterosclerosis no está relacionada con la ingestión alimenticia de colesterol ¹⁴. El hecho pues, que se pueda reproducir experimentalmente la lesión pero que sean distintos los mecanismos patogénicos en juego, hace importante recalcar en esta discusión, que existen otros métodos que provocan aterosclerosis sin aumentar la ingestión de colesterol (ver bibliografía en ¹⁴): 1) en el mono, mediante dietas pobres en piridoxina; 2) en la rata, con dietas

pobres en colina o inyectadas con lipoproteínas anormales; 3) en la rata, con dietas hipergrasas en presencia o no de trastornos renales provocados, y, 4) en el ganso, con dietas hipercalóricas. Estos métodos tienen, pues de común con la aterosclerosis humana que la ingestión alimenticia de colesterol no está aumentada, aunque queda por considerar si son comunes los mecanismos etiopatogénicos. La carencia de piridoxina y de colina puede ya eliminarse en el hombre como factor etiológico por no habérsela podido demostrar y por la negatividad de los resultados terapéuticos. Los otros procedimientos experimentales, en cambio, parecen tener cierta similitud con la aterosclerosis humana.

En efecto, se ha demostrado que las muertes por enfermedades cardiovasculares son más frecuentes en los países que consumen más grasas y que descienden cuando la población es sometida a regímenes hipograsos, como sucedió en la última guerra¹⁵. También las lesiones ateroscleróticas son menos aparentes en los muertos con enfermedades emaciantes y en los alcoholistas desnutridos¹⁶ reduciéndose la mortalidad de pacientes coronarios sometidos a dietas pobres en grasas¹⁷.

La aterosclerosis experimental en ratas con trastorno renal⁹, también tiene semejanza con la situación humana, pues tanto en la hipertensión arterial como en los trastornos renales, existen lesiones arteriales.

El mecanismo a través del cual dietas hipergrasas provocan aterosclerosis en ratas, con o sin trastorno renal, es desconocido, pero ello aparentemente se efectúa a través de un trastorno provocado en el metabolismo del colesterol (ver bibliografía en ^{14, 18}): 1) las dietas ricas en grasas provocan hipercolesterolemia en ratas y aumento de la excreción de los esteroides fecales, habiéndose demostrado, en estas circunstancias, un aumento en la síntesis del colesterol en el organismo, hecho recientemente corroborado por nosotros¹⁸ y que está en relación con la estructura química de la grasa: así, las grasas insaturadas tienen más poder colesterogénico que las de menor índice de iodo. 2) El trastorno renal, además de actuar a través del efecto hipertensivo, puede también aumentar el contenido de colesterol de distintos tejidos del organismo, posiblemente por su mayor síntesis¹⁹.

Además, otro factor a tener en cuenta, está representado por las

variaciones del colesterol no ya de todo el organismo sino propias de la pared arterial. En efecto, aún cuando las lesiones iniciales de aterosclerosis pueden no estar en relación con un depósito demostrable de colesterol, parece probable que la progresión de las lesiones sí está relacionada con el aumento del colesterol en la pared arterial ¹⁴.

Antes de seguir adelante, es necesario recordar que las arterias no constituyen tubos huecos por los cuales circula simplemente la sangre, sino que están constituidas por un importante tejido con distintas funciones propias, además de las de sostén y de elasticidad. Las arterias, como todo tejido vivo, tienen un metabolismo propio, con capacidad propia de nutrición, etc., en relación evidente con la circulación intramural del líquido intersticial. Dicha circulación ha podido ser visualizada mediante colorantes y debe obedecer a las leyes de permeabilidad y de circulación de los líquidos de todo el organismo.

Existe pues una "circulación hacia la arteria" proveniente de la íntima y del extremo arterial de los vasa vasorum y una "circulación desde la arteria" reabsorbida por el extremo venoso de las vasa vasorum y por los linfáticos. Esta circulación intramural debe ser importante en el depósito de cualquier sustancia intraarterial y ha sido muy poco estudiada hasta ahora ¹⁴.

El mecanismo por el cual se deposita el colesterol y progresan las lesiones arteriales es desconocido en la actualidad, pero puede suponerse que la cantidad de esta sustancia que existe en las paredes arteriales en un momento determinado surge del balance entre las influencias que tratan de aumentarla (colesterol aportado por ultrafiltración de la "circulación hacia la arteria" y del sintetizado localmente) y de los mecanismos que tienden a eliminarlo (destrucción local y remoción por corrientes linfáticas o mediante células fagocíticas). Casi todos estos mecanismos han sido confirmados experimentalmente (ver bibliografía en ¹⁴) y es entonces posible pensar que el colesterol puede aumentar en la pared arterial porque aumente el aporte (mayor colesterolemia o mayor velocidad de aporte, hipertensión?) o la síntesis local; o porque disminuya la destrucción in situ o el transporte celular o intersticial (macromoléculas que impidan la reabsorción?, lesión de los vasa vasorum como en la sífilis?). Todos estos posibles mecanismos de aumento del

colesterol intramural (y la consiguiente progresión de las lesiones) señalan la independencia de estos procesos con la hipercolesterolemia, aunque ella constituya uno de los mecanismos capaces de aumentar el colesterol intramural.

CONCLUSIONES

Los múltiples procedimientos experimentales desarrollados por nosotros y por otros autores, capaces de provocar aterosclerosis en distintas especies animales, nos hacen suponer que esta lesión constituye una reacción inespecífica de la arteria ante diversos estímulos patológicos. Las lesiones ateroescleróticas primitivas suceden sin depósito aparente de colesterol en la íntima arterial; la progresión de las mismas, en cambio, está asociada con el depósito de colesterol en las paredes arteriales. Contrariamente a lo que sucede en ciertas condiciones experimentales, en el hombre este depósito, no está relacionado con un aumento en la ingestión del mismo y parece, en cambio, vincularse con una mayor síntesis de colesterol endógeno, aunque no se descarta que, en situaciones especiales, existan también trastornos en su eliminación, destrucción o transformación.

Hay distintos mecanismos capaces de estimular la síntesis de colesterol en el organismo, algunos de los cuales hemos podido demostrar experimentalmente, tales como la alimentación hipergrasa y el trastorno renal. Cuando el colesterol total del organismo se halla aumentado, aumenta asimismo el depositado en las paredes arteriales, aunque teóricamente es también aceptable una variación independiente de estos dos procesos. La cantidad depositada en las arterias surge así del balance de factores arteriales locales (aporte, síntesis, reabsorción y destrucción), aunque estos mecanismos locales son casi seguramente influidos por factores generales de todo el organismo (hipertensión, hipercolesterolemia, hipotiroidismo, diabetes, etcétera).

La diversidad de mecanismos posibles de sufrir variaciones patológicas hace pensar también que en el hombre deben existir múltiples causas capaces de provocar aterosclerosis, de la misma manera que existen diversos procedimientos para provocar la aterosclerosis experimental. En el ser humano es necesario además considerar la influencia de factores hereditarios, ambientales, endócrinos, metabólicos, hemodinámicos, infecciosos, etc., que pueden intervenir,

aislada o combinadamente, en la producción y en la progresión de las lesiones ateroscleróticas. La múltiple etiología del proceso puede poseer, sin embargo, un mecanismo patogénico común, es decir, el aumento intramural del colesterol, el cual a su vez, puede efectuarse a través de distintos mecanismos. La posibilidad terapéutica de actuar sobre los factores etiológicos o los mecanismos patogénicos, sugiere cierto optimismo en el enfoque futuro de esta afección.

BIBLIOGRAFIA

1. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — La evolución de segmentos arteriales "aislados" en ratas normales. *Rev. Arg. Cardiol.* 1952, 19, 1.
2. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Producción experimental de ateromatosis localizada en la rata. IV Congreso Interamericano de Cardiología, Buenos Aires, 1952; *Rev. Arg. Cardiol.* 1952, 19, 165.
3. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Movilización del colesterol incorporado en las arterias de ratas normales. *Rev. Arg. Cardiol.* 1953, 20, 29.
4. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Aterosclerosis generalizada experimental en la rata. Primer Congreso Sudamericano de Angiología, Buenos Aires 1952; *Ciencia en Investig.* 1953, 9, 39.
5. a) *Bragdon, J. H. y Boyle, E.* — Experimental atherosclerosis in the rat. *Am. J. Path.* 1952, 38, 527 (P). b) *Wissler, R. W., Eilert, M. L., Schroeder, M. A. y Cohen, L.* — Arterial atheromatous lesions in rat. *Fed. Proc.* 1952, 11, 434. c) *Hartcroft, W. S., Ridout, J. H., Sellers, E. A. y Best, C. H.* — Atheromatous changes in aorta, carotid and coronary arteries of choline-deficient rats. *Proc. Soc. Exp. Med.* 1952, 81, 384.
6. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Diferentes métodos para la producción experimental de aterosclerosis generalizada en la rata. Premio Paul D. White de la Soc. Arg. de Cardiología, Buenos Aires 1954.
7. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Different methods for the production of generalized atherosclerosis in the rat. *Acta Cardiol.* 1954 9, 480.
8. *Malinow, M. R.* — Importancia de la obesidad en cardiología. *Rev. Arg. Cardiol.* 1955.
9. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Production of atheromatosis in the rat, an omnivorous mammal, by forced feeding of vegetable oil: preliminary report. *Proc. of the Eight Annual Meeting, Am. Soc. for the Study of Arteriosclerosis.* *Circulation* 1954, 10, 592.
10. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Spontaneous atherosclerosis in the rat. *Proc. of the Ninth Annual Meeting, Am. Soc. for the Study of Arteriosclerosis,* *Circulation* 1955, 12, 501..
11. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Observaciones no publicadas.
12. *Malinow, M. R., Hojman, D. y Pellegrino, A. A.* — Different methods for the production of generalized atherosclerosis in the rat. 2º Congreso Mundial de Cardiología, Washington, D. C., 1954.

13. *Moia, B. y Malinow, M. R.* — Patogenia de la aterosclerosis. Jornadas Argentinas de Cardiología, Mar del Plata 1955.
14. *Malinow, M. R.* — Fisiopatología y terapéutica de la arteroesclerosis. Symposium de Cardiología, Ed. El Ateneo, Buenos Aires 1954, pág. 121.
15. *Keys, A.* — Human atherosclerosis and the diet. *Circ.* 1952, 5, 115.
16. *Wilens, S. L.* — The relationship of chronic alcoholism to atherosclerosis. *J.A.M.A.* 1947, 135, 1136.
17. *Morrison, L. M.* — Reduction of mortality rate in coronary atherosclerosis by a low cholesterol-low fat diet. *Am. Heart J.* 1951, 42, 538.
18. *Malinow, M. R.* — Relaciones entre arteriosclerosis y colesterol. *Rev. Arg. Cardiol.* 1951, 18, 277.
19. *Malinow, M. R. y Ramos, E. H.* — Observaciones no publicadas.

RESUME

On résume les expériences réalisées pendant les six dernières années a l'Institut de Cardiologie L. H. Inchauspe, sur l'athérosclérose du rat, comme aussi celles qui ont permis de décrire l'athérosclérose spontanée chez le même animal. En tenant compte ces observations on formule une hypothèse de travail qui permet d'expliquer la pathogénie de l'athérosclérose expérimentale et qui peut aussi être appliquée à l'homme.

SUMMARY

Research on experimental and spontaneous atherosclerosis in rats conducted during the last six years in the Pabellón de Cardiología Inchauspe, is reviewed. Based on this experience, a working hypothesis able to explain experimental atherosclerosis, is formulated; it is postulated that human atherosclerosis may also similarly be explained.

ZUSAMMENFASSUNG

Es werden die Erfahrungen bekanntgegeben die während der letzten 6 Jahre erzielt wurden im Pavillon für Herzerkrankungen "Luis H. Inchauspe" über das Thema:

Experimentelle Arteriosklerose in der Ratte sowie über, Erfahrungen von spontaner Arteriosklerose im gleichen Tier.

Auf Grund dieser Beobachtungen werden Schlussfolgerungen gezogen welche die Entstehung der experimentellen Arteriosklerose zu erklären erlauben und die auf den Menschen anwendbar sind.