

## Investigación traslacional cardiovascular

## Modelos experimentales de aterosclerosis

Carlos G. Santos-Gallego<sup>a</sup>, Juan J. Badimon<sup>a</sup> y Borja Ibáñez<sup>b,c,\*</sup><sup>a</sup>Atherothrombosis Resarch Unit, Mount Sinai School of Medicine, Nueva York, Estados Unidos<sup>b</sup>Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Madrid, España<sup>c</sup>Instituto Cardiovascular, Hospital Clínico San Carlos, Madrid, España**Palabras clave:**Aterosclerosis  
Hipercolesterolemia  
Modificación genética  
Modelo animal**RESUMEN**

Existen diferentes modelos de aterosclerosis en animales tanto pequeños (roedores) como grandes. La gran ventaja de los animales pequeños es que son de bajo coste, asequibles y de fácil manejo y que hay disponibles modificaciones genéticas relevantes. Los modelos de aterosclerosis en animal grande tienen las desventajas de sus peores asequibilidad y manejo y su coste. Sin embargo, tienen anatomía y fisiología mucho más parecidas a las humanas y los resultados obtenidos son mucho más extrapolables a la patología humana. La elección de uno u otro modelo depende de la naturaleza que se quiera dar a la investigación. En estudios mecanísticos, se puede utilizar con mayor precisión los modelos de roedor, pero para un estudio más traslacional, los modelos de animal grande dan respuestas más cercanas a las de los pacientes. Las técnicas de imagen no invasiva han hecho avanzar mucho el campo del conocimiento de la aterosclerosis a través del estudio seriado de modelos animales ateroscleróticos.

**Experimental Models of Atherosclerosis****ABSTRACT**

Today, experimental models of atherosclerosis employ both small (e.g. rodents) and large animals. The main advantages of small animals are their low cost, ready availability, ease of handling and the existence of animals with the appropriate genetic modifications. Models of atherosclerosis in large animals have the disadvantages that they are less readily available, more difficult to handle and more expensive. However, their anatomy and physiology more closely resemble human anatomy and physiology, and experimental observations are much easier to extrapolate to human pathology. The choice of animal model depends on the nature of the research. For example, studies of mechanisms can be carried out with greater precision in rodent models but, for translational studies, responses in large animal models are much closer to human responses. Our understanding of atherosclerosis has increased substantially thanks to serial studies of noninvasive imaging techniques in animal models of the disease.

**Keywords:**Atherosclerosis  
Hypercholesterolemia  
Genetically modification  
Animal model**INTRODUCCIÓN**

Ignatowski<sup>1</sup> aportó la primera evidencia de aterosclerosis experimental cuando, en 1908, describió que, al alimentar a conejos con dieta rica en proteínas animales (carne, leche, huevos, etc.), se inducía la formación de células (macrófagos) grandes y claras. Sin embargo, fue Anitschkow<sup>2</sup> el primero en demostrar que la inducción de la aterosclerosis se debía a los lípidos, no a las proteínas; alimentó conejos con yema de huevo y colesterol disuelto en aceite vegetal y comprobó que se producían lesiones ateroscleróticas similares a las presentes en humanos. Desde estos estudios pioneros hasta la actualidad, se ha recorrido un largo camino respecto a los modelos animales de aterosclerosis. En el presente artículo se resumen sucintamente las consideraciones más interesantes acerca de los modelos animales.

**PROCESO DE ATEROGÉNESIS**

La acumulación de colesterol tiene un papel central en el proceso de aterogénesis. La primera etapa consiste en que, a causa de los factores de riesgo, el endotelio aumenta su permeabilidad (disfunción endotelial, el fenómeno más precoz de la aterogénesis). El colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) penetra en la pared vascular merced al proceso de disfunción endotelial, se une a los proteoglicanos del espacio subendotelial y sufre oxidación. El colesterol oxidado es altamente tóxico, de modo que es fagocitado por los macrófagos de la pared arterial; la presencia de colesterol oxidado desencadena una serie de reacciones proinflamatorias a través de diversos mediadores que perpetúan la inflamación y reclutan más monocitos/macrófagos y células inflamatorias. Al fagocitar los lípidos, los macrófagos se transforman en células espumosas. Se producen cambios secundarios en la media y en la adventicia, con proliferación de células de músculo liso vascular (CML) y aparición de una cubierta fibrótica que protege el núcleo lipídico de la sangre. Cuando los macrófagos no pueden acumular más colesterol, inician el proceso de

\*Autor para correspondencia: Laboratorio de Imagen en Cardiología Experimental, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares Carlos III (CNIC), Melchor Fernández Almagro 3, 28029 Madrid, España.

Correo electrónico: bibanez@cnic.es (B. Ibáñez).

### Abreviaturas

CETP: proteína de transferencia de ésteres de colesterol  
 CML: células de músculo liso vascular  
 HDL: lipoproteínas de alta densidad  
 LDL: lipoproteínas de baja densidad  
 RM: resonancia magnética  
 VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad

apoptosis, y liberan no solo el colesterol nuevamente al espacio subendotelial, sino además sustancias proinflamatorias como factor tisular, citocinas y metaloproteinasas de matriz (las cuales digieren la cubierta fibrosa), lo cual hace a las lesiones más susceptibles a la erosión y la rotura. Cuando la placa se rompe, la sangre entra en contacto con el núcleo lipídico necrótico (altamente trombogénico), lo cual induce la formación de un trombo sobre esa placa, trombo que ocluye la circulación obstruyendo por completo la luz del vaso, lo que desencadena un evento cardiovascular (síndrome coronario agudo o ictus).

### MODELOS DE ATROSCLEROSIS EN RATONES

Clásicamente los estudios con modelos animales se habían llevado a cabo con conejos, cerdos y primates. No obstante, las dificultades de manejo de animales grandes, los gastos que conllevan dichos animales y las consideraciones de carácter ético al usar primates condicionaron el desarrollo de modelos de aterosclerosis en animales más pequeños. Además, el desarrollo tecnológico, con la aparición de ratones modificados genéticamente, hizo que este modelo se extendiera rápidamente.

#### Ratones silvestres

Los ratones no modificados genéticamente se denominan ratones silvestres (del inglés *wild type mouse*). En los ratones silvestres no se desarrolla espontáneamente la aterosclerosis cuando se los alimenta con la dieta habitual del ratón. Por ello, para iniciar el proceso aterogénico, se necesita elevar la concentración de LDL (cociente HDL/LDL bajo). Esto se consigue con dietas ricas en colesterol.

Los estudios iniciales en ratones se hicieron con dietas hipercolesterolémicas en diversas razas silvestres. El pionero fue Robert Wissler, que usó ácidos biliares para inducir la formación de placas<sup>3</sup>. Una de las más populares es la dieta Paigen (desarrollada en 1985 por Beverly Paigen<sup>4,5</sup>), que es una dieta rica en grasa (el 15%, principalmente grasas saturadas derivadas de mantequilla de coco, se suele añadir un 1% de aceite de maíz para suplir la deficiencia de ácidos grasos poliinsaturados) y en colesterol (1,25%), que además contiene ácido cólico (0,5%). El desarrollo de estría grasa es proporcional a la composición en grasas saturadas. El ácido cólico actúa aumentando la absorción de colesterol (como sal biliar que es) e inhibiendo la excreción de ácidos biliares (inhibe la enzima 7 $\alpha$ -hidroxilasa); no obstante, modernos estudios recomiendan no emplear ácido cólico, pues activa genes implicados en fibrosis hepática<sup>6</sup>.

Paigen estudió la susceptibilidad a la aterosclerosis de diez razas diferentes de ratón tratadas con la dieta Paigen; de menor a mayor susceptibilidad, encontramos: BALB/cJ = C3H/J = A/J = SWR/J = NZB/J (apenas desarrollan) < 129J = AKR/J = DBA/2J < C57L/J < C57BL/6J. La dieta indujo hipercolesterolemia en las diez razas, pero solo aterosclerosis en las cinco últimas; no hubo relación estadística entre hipercolesterolemia y desarrollo de aterosclerosis. Además, incluso en la raza C57BL/6J (la más susceptible) las lesiones se restringían al arco aórtico, eran pequeñas y contenían pocas células.

Por este motivo, se desarrollaron modelos de ratón modificados genéticamente; los primeros en desarrollarse fueron los de ratón *knock out* (KO) para *apoE* y ratón KO para *LDL-R*. Se denomina KO a la ausencia del gen en cuestión. Debemos destacar que ningún modelo murino disponible desarrolla todo el espectro de lesiones presentes en humanos. La mayor parte de los modelos de ratón desarrollan lesiones tipo I y II de la clasificación de la *American Heart Association* (AHA), pero solo un número muy escaso desarrolla lesiones tipo IV. Ningún modelo de ratón desarrolla la rotura o la erosión de placa ni la trombosis que causan los eventos cardiovasculares en humanos. Por ellos, se debe usar los modelos murinos para estudiar depósito lipídico y adhesión de monocitos.

#### Ratones KO para *apoE*

En 1992, los laboratorios de Breslow<sup>7</sup> y Maeda<sup>8</sup>, trabajando independientemente, comunicaron a la comunidad científica que habían desarrollado el modelo de ratón KO para *apoE*, en el que las lesiones ateroscleróticas eran muy frecuentes (incluso con dietas normales). A diferencia del ratón silvestre (que solo sufre lesiones —estría lipídica— en la raíz aórtica y con dieta rica en colesterol), el ratón KO para *apoE* adquiere lesiones en todo el árbol arterial<sup>9</sup>, incluso con dieta normal, y dichas lesiones progresan más allá de la estría grasa hasta la placa fibrosa.

En el ratón KO para *apoE*, una dieta tan agresiva como la Paigen no es necesaria (de hecho, este modelo adquiere espontáneamente lesiones incluso con dieta normal). No obstante, una dieta rica en colesterol acelera el desarrollo de la placa y la vuelve aún más rica en lípidos. La dieta más usada en todos los experimentos con ratones es la occidental (*Western diet*, introducida por Plump en el laboratorio de Breslow en 1992)<sup>7</sup>, que contiene un 21% de grasa y el 0,15% de colesterol; de hecho, se ha demostrado que la dieta occidental en ratones KO para *apoE* acelera el desarrollo de la placa sin cambiar las características morfológicas de la lesión<sup>9</sup>.

Los ratones heterocigotos para *apoE* (*ApoE*-/+) no desarrollan aterosclerosis con dieta normal, pero sí con dieta rica en colesterol; sin embargo, el ratón homocigoto *ApoE*-/- sí es significativamente hiperlipémico (2.000 mg/dl) y sufre lesiones 50 veces más extensas que el heterocigoto *ApoE*-/+.

#### Ratones KO para el receptor de LDL (*LDL-R*)

El otro modelo murino más usado es el de ratón KO para *LDL-R*, creado en el laboratorio de Herz en 1993<sup>10</sup>. Comparado con los ratones silvestres, los KO para *LDL-R* presentan altas concentraciones de cLDL (fenotipo muy similar al de los humanos con hipercolesterolemia familiar), pero con dieta normal las lesiones ateroscleróticas se desarrollan muy lentamente. No obstante, al alimentarlos con dieta rica en colesterol incrementan los valores de LDL y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) (se alcanza el nuevo equilibrio lipídico en 2 semanas) y las lesiones se desarrollan en 2-3 meses. La dieta más usada en este modelo es la dieta occidental (el 21% de grasa, el 0,15% colesterol, idealmente suplementada con un 1% de aceite de maíz para obtener ácidos grasos esenciales); de hecho, se ha demostrado que la dieta occidental en ratones KO para *apoE* acelera el desarrollo de la placa sin cambiar las características morfológicas de la lesión<sup>9</sup>.

Tanto el ratón KO para *apoE* como el KO para *LDL-R* son modelos hiperlipémicos, pero los primeros se caracterizan por sufrir lesiones más graves o más complejas que los segundos y porque las lesiones aparecen incluso con dieta normal<sup>11,12</sup>.

Algunos investigadores prefieren el modelo de ratones KO para *LDL-R* a pesar de sus lesiones más pequeñas y que necesitan dietas especiales, dado que la distribución del colesterol en estos ratones se parece más a la de los humanos, en que la mayor parte del colesterol se moviliza en cLDL. El colesterol en los ratones KO para *apoE* se moviliza principalmente en forma de VLDL.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3019427>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3019427>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)