

## EL USO DE MODELOS AVIARES EN EL ESTUDIO DE LA ARTERIOSCLEROSIS HUMANA

Use of avian models for human atherosclerosis research

**Ayala, I., De Membiela, F., Doménech, G. y García Pérez, B.\***

Facultad de Veterinaria, Campus de Espinardo 30100, Murcia.

\* Servicio de Medicina Interna. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia

Correspondencia a:

Ignacio Ayala  
iayape@um.es

### RESUMEN

Las aves se han utilizado desde los comienzos de la experimentación animal aplicada al estudio de la arteriosclerosis humana. Este trabajo presenta los cuatro modelos aviares empleados en la gran mayoría de dichos estudios (pollo, paloma, codorniz japonesa y pavo); resume ventajas e inconvenientes de su utilización y analiza su contribución a la comprensión de diversos aspectos de la enfermedad.

La experimentación con modelos aviares ha aportado valiosos conocimientos acerca del papel que desempeñan factores genéticos, virus, estrógenos o la hipertensión en la susceptibilidad a la arteriosclerosis y se han utilizado además en el estudio de los mecanismos celulares y bioquímicos implicados en su patogenia.

**Palabras clave:** modelos aviares, arteriosclerosis.

### ABSTRACT

Avian models were some of the first animal models of atherosclerosis to be studied. This work presents the four species used for the vast majority of these studies (chicken, pigeon, Japanese quail and turkey). It summarizes the advantages and disadvantages of their use and analyses their contribution to the comprehension of atherosclerosis.

These animal models have provided unique insights into specific aspects of atherosclerosis, including the role of genetic factors, viruses, estrogens and hypertension in susceptibility to atherosclerosis, and have been used extensively to study cellular and molecular mechanisms in the pathogenesis of atherosclerosis.

**Key words:** avian models, atherosclerosis.

## INTRODUCCIÓN

Dada la complejidad del desarrollo de la lesión arteriosclerótica en el hombre, sería interesante experimentar en modelos animales en los que dicho desarrollo sea semejante al de la enfermedad humana.

En 1913, N. Anitschkow y S. Chalataw establecieron el método experimental hoy ya clásico de arteriosclerosis alimentando a conejos con colesterol puro. Desde entonces, la mayoría de estos experimentos han sido realizados en conejos, que son animales herbívoros y cuadrúpedos que espontáneamente no desarrollan arteriosclerosis y cuando ésta se les induce con dietas hipercolesterolémicas (obteniendo niveles séricos de colesterol muy por encima de los que se observan en la clínica humana) aparecen lesiones predominantemente xantomatosas y no homogéneas, con una gran variabilidad en su extensión.

Las aves son animales bípedos, omnívoros, hipercolesterolémicos e hiperglucémicos, desarrollan arteriosclerosis espontánea en la aorta abdominal e inducida por la dieta en la aorta torácica, con niveles de colesterol más próximos al de los humanos (Wong, 1975) y un desarrollo más homogéneo. Además, son animales de fácil manejo y bajo costo.

Actualmente los modelos aviares deberían ser considerados los más adecuados en sustitución del mono y del cerdo (animales más caros, de difícil manejo y que desarrollan la enfermedad de forma muy lenta) y por encima del usado habitualmente, el conejo.

## POLLO

El pollo, al igual que otras especies aviares, es capaz de desarrollar arteriosclerosis aórtica y coronaria de forma natural o espontánea e inducida por una dieta enriquecida en colesterol, hecho descrito por primera vez de forma detallada por Dauber y Katz en 1943.

La enfermedad aparece de forma espontánea debido a que el pollo presenta hipercolesterolemia de forma natural, con concentraciones plasmáticas de 200 a 350 mg/dL, la mayoría como lipoproteínas de alta densidad (Orita et al., 1994). Las lesiones arteriales aparecen en el segmento abdominal de la aorta, donde son severas y extensas (Weiss, 1959), particularmente en su pared ventral, lo que sugiere influencias hemodinámicas en la patogenia (Texon, 1960). Cuando la lesión es reconocible macroscópicamente, tiene lugar la acumulación de lípidos en la pared arterial (Grollman et al., 1963).

Las alteraciones vasculares observadas en pollos alimentados con dietas aterogénicas afectan principalmente a la aorta torácica y no muestran diferencias esenciales con las descritas en la arteriosclerosis humana (Wong, 1975).

Aunque el envejecimiento en el pollo se acompaña del desarrollo progresivo de arteriosclerosis e hipertensión, ambos procesos son en esta especie independientes y no relacionados patogénicamente (Grollman et al., 1963).

En cuanto al papel de los virus en la patogenia de la enfermedad, diferentes estudios demuestran la capacidad del herpesvirus de la enfermedad de Marek para inducir arteriosclerosis, merced a una alteración en el metabolismo del colesterol que provoca su acumulación en las lesiones (Fabricant y Fabricant, 1999).

El pollo fue uno de los primeros modelos animales utilizados en estudios de regresión de la arteriosclerosis. En esta especie el grado de involución de las lesiones se relaciona directamente con la disminución de la concentración plasmática de colesterol y puede ser modificado por el efecto de estrógenos o insulina (St. Clair, 1983 a). La capacidad de los estrógenos para reducir la arteriosclerosis, principalmente coronaria, se demostró por primera vez en este animal (Pick et al., 1952). También se ha utilizado el pollo para valorar en condiciones experimentales la actividad de fármacos hipolipemiantes y bloqueantes de los canales de calcio sobre lesio-



FIGURA 1. Pollos en fase de inducción de arteriosclerosis experimental por medio de una dieta enriquecida en colesterol.

nes arteriales inducidas por la dieta (García Pérez, 1992).

Las investigaciones más recientes con este modelo se centran en precisar la implicación de factores de riesgo (Penn, 1993), conocer el efecto protector de determinados componentes de la dieta (Castillo et al., 2000) y esclarecer aspectos relacionados con la patogenia que permitan prevenir y tratar más eficazmente la arteriosclerosis (Ayala et al., 2000).

La similitud entre las lesiones arteriales de pollos alimentados con dietas aterogénicas y las placas arterioscleróticas humanas, el desarrollo espontáneo de la enfermedad en esta especie, su

adecuado tamaño y su fácil disponibilidad y manejo en condiciones experimentales (Fig. 1) hacen de este animal un modelo ideal para llevar a cabo estudios sobre la arteriosclerosis.

### **PALOMA**

La paloma ha sido una de las especies aviares más utilizadas en el estudio de la arteriosclerosis. La aparición espontánea de esta enfermedad en dicha especie fue demostrada por primera vez por Clarkson et al. en 1959.

Un hecho único de la enfermedad en la paloma es lo predecible de la localización prima-

ria de las lesiones arterioscleróticas, que muestran predilección por la bifurcación de la arteria celíaca (St. Clair, 1983 b). En dicha localización la acumulación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) es mayor que en áreas adyacentes de la aorta, resistentes a la aparición de lesiones (Schwenke y St. Clair, 1992).

Al no existir correlación en aortas normales entre el flujo de LDL a ciertos lugares arteriales y su posterior facilidad para el desarrollo de arteriosclerosis, se concluye que lo que determina la susceptibilidad de dichas localizaciones específicas no es la entrada de lipoproteínas sino su posterior retención en la pared arterial. El mecanismo causante de la retención de LDL es desconocido y podría estar relacionado con diferencias en la composición de proteoglicanos de la matriz extracelular (St. Clair, 1998).

Lo predecible de la localización de las lesiones hace a este modelo ideal para estudiar las características de la pared arterial que predisponen al desarrollo de arteriosclerosis y, por otra parte, los cambios bioquímicos y celulares tempranos en la patogenia de la enfermedad.

La apariencia microscópica de la arteriosclerosis aórtica en la paloma es muy similar a la observada en el hombre. La aparición frecuente de trombosis es un hecho único en este modelo experimental. A excepción de primates no humanos que hayan consumido dietas aterogénicas durante un mínimo de diez años, la paloma es el único modelo en el que la trombosis mural asociada a arteriosclerosis experimental es un hallazgo frecuente.

En cuanto a la enfermedad coronaria, a diferencia del hombre y otros modelos animales, la arteriosclerosis afecta primero a pequeñas ramas intramiocárdicas y su desarrollo es independiente del de la enfermedad en otras arterias. El infarto de miocardio es un hallazgo común en aves de edad avanzada con arteriosclerosis severa (Prichard et al., 1963).

La paloma muestra una marcada diferencia en la susceptibilidad a la arteriosclerosis entre razas. A una misma concentración plasmática

de colesterol los individuos de raza White Carneau son sensibles al desarrollo de arteriosclerosis aórtica espontánea o inducida por la dieta, mientras que los de raza Show Racer son resistentes. La diferente susceptibilidad a la arteriosclerosis aórtica entre razas puede estar mediada genéticamente y ser debida a aspectos relacionados con la función de los macrófagos (St. Clair, 1998).

Las palomas de raza White Carneau han sido ampliamente utilizadas en estudios de regresión de la arteriosclerosis inducida por la dieta. Al retirar la alimentación aterogénica la concentración de colesterol plasmático puede volver a niveles normales en pocas semanas (Clarkson et al., 1973). Paralelamente disminuyen la superficie arterial lesionada y el contenido de colesterol libre y esterificado en la pared del vaso. Este hecho explica la facilidad de la paloma y otras aves para sufrir involución de lesiones arterioscleróticas y la convierte en una especie muy adecuada para estudios de regresión.

Dietas con un contenido moderado en lípidos son capaces de inducir lesiones severas en aves muy jóvenes. Esto, unido a su potencial de regresión, las hace apropiadas también para testar los efectos de agentes farmacológicos contra la arteriosclerosis humana (Hadjiisky et al., 1991).

Las palomas son animales de bajo costo y fácil disponibilidad y manejo en condiciones de investigación, son resistentes y toleran bien la variación en los constituyentes de la dieta. Su pequeño tamaño (500 gramos) es el suficiente para llevar a cabo estudios metabólicos que requieran la obtención frecuente de múltiples muestras de sangre de un mismo animal (Reagan et al., 1990).

## CODORNIZ JAPONESA

La codorniz japonesa (*Coturnix coturnix japonica*) es un modelo experimental muy útil para el estudio de la arteriosclerosis humana. Es un animal pequeño (120 gramos), omnívoro,

fácil de mantener en condiciones experimentales y caracterizado por su bajo consumo de alimento y su corto ciclo de vida (Shih, 1983).

La codorniz es susceptible a la arteriosclerosis espontánea e inducida por la dieta. Con la alimentación aterogénica en un período de dos a tres meses aparecen lesiones significativas en la aorta. Al cabo de dos años las paredes arteriales muestran engrosamiento de la íntima, necrosis y severa mineralización, hallazgos típicos de lesiones humanas avanzadas (St. Clair, 1998).

La relación entre la enfermedad experimental y el infarto de miocardio fue demostrada por primera vez en esta especie por Ojerio et al. en 1972.

A partir de la codorniz japonesa se han seleccionado líneas susceptibles a la arteriosclerosis experimental (SEA) y líneas resistentes (Shih et al., 1983). La absorción de colesterol es significativamente mayor en aves susceptibles (Iwasaki et al., 2000), lo cual explica en parte su predisposición a desarrollar hiperlipidemia y lesiones arteriales de estructura histológica similar a las placas arterioscleróticas humanas, caracterizadas por la presencia de células espumosas, la proliferación de fibras musculares lisas y fibroblastos y la deposición de colágeno (Casale et al., 1992).

A su vez, la predisposición al desarrollo de la enfermedad en codornices SEA es mucho mayor en machos que en hembras (Day et al., 1977). Las diferencias en los perfiles de enzimas antioxidantes (glutación peroxidasa y superóxido dismutasa) en glóbulos rojos y tejido aórtico entre individuos de ambos sexos alimentados con una dieta aterogénica no parecen explicar su distinta susceptibilidad (Godin et al., 1995).

Las codornices macho de la línea altamente sensible han constituido un modelo animal práctico, económico y muy utilizado en estudios para el desarrollo de fármacos contra la arteriosclerosis (Day et al., 1977).

En 1994, el estudio de cultivos de fibras musculares lisas aórticas de codornices susceptibles por Shih et al. sugiere la infección latente

de estos animales por un herpesvirus. No obstante, los intentos de aislamiento de partículas víricas a partir de células en cultivo no han tenido éxito y su implicación en la patogenia de la arteriosclerosis no ha sido demostrada en este modelo animal.

Las codornices también han sido utilizadas para evaluar la influencia conjunta de la composición en ácidos grasos y colesterol de la dieta en el desarrollo de hipercolesterolemia y lesiones arteriales (Yuan et al., 1997).

## PAVO

El interés de esta especie como modelo animal para el estudio de la arteriosclerosis humana radica en su natural padecimiento de hipertensión, principalmente en la raza Broad Breasted White.

En relación directa con su elevada presión arterial se describen en el pavo aneurismas disecantes de aorta, hipertrofia cardíaca y arteriosclerosis espontánea severa, principalmente en la aorta abdominal. El tratamiento con  $\beta$ -bloqueantes reduce el tamaño y la severidad de las lesiones arteriales, incluso en ausencia de una reducción significativa de los valores de presión sanguínea (Pauletto et al., 1988).

La mayor resistencia frente a la arteriosclerosis en hembras de esta especie no está relacionada con la ausencia de hormonas masculinas (Miller et al., 1985).

## AGRADECIMIENTOS

Este trabajo forma parte de una línea de investigación financiada por la Fundación Séneca: "*Efecto de la atorvastatina sobre la regresión de la arteriosclerosis experimental del pollo inducida por la dieta*" (referencia PI-7/00785/FS/01).

Agradecemos la colaboración de las empresas Hijos de Juan Pujante S.A. y Avícola Levantina S.A. así como del veterinario de las mismas, Dr. D. Juan Pablo Pérez Ruzafa.

## BIBLIOGRAFÍA

- Anitschkow N. 1933. Experimental atherosclerosis in animals. En: *Atherosclerosis*. pp 271-91. Cowdrey Ev, ed. McMillan Company. New York.
- Ayala I, Gutierrez-Panizo C, De Membiela F, Montes A. El uso de modelos animales en el estudio de la arteriosclerosis humana. *Rev Exp Anim* 1999-2000; 10-11(1-2): 53-58.
- Casale ES, Qureshi MA, Shih JC. Immunocytochemical and scanning electron microscopic studies of atherosclerosis in Japanese quail. *Poultry Sci* 1992; 71(1): 141-50.
- Castillo M, Amalik F, Linares A, García-Peregrín E. Fish oil reduces cholesterol and arachidonic acid levels in plasma and lipoproteins from hypercholesterolemic chicks. *Mol Cell Biochem* 2000; 210(1-2): 121-30.
- Clarkson TB, Prichard RW, Netsky MG. Atherosclerosis in pigeons: its spontaneous occurrence and resemblance to human atherosclerosis. *AMA Arch Pathol* 1959; 68: 143-47.
- Clarkson TB, King JS, Lofland HB. Pathologic characteristics and composition of diet-aggravated atherosclerotic plaques during "regression". *Exp Mol Pathol* 1973; 19: 267-83.
- Dauber DV, Katz LN. Experimental atherosclerosis in the chick. *AMA Arch Pathol* 1943; 36: 473-92.
- Day CE, Stafford WW, Schurr PE. Utility of selected line (SEA) of the Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) for the discovery of new anti-atherosclerosis drugs. *Lab Anim Sci* 1977; 27(5): 817-21.
- Fabricant CG, Fabricant J. Atherosclerosis induced by infection with Marek's disease herpesvirus in chickens. *Am Heart J* 1999; 138(5): S465-68.
- García Pérez B. 1992. Efecto del nifedipino, verapamilo y diltiazem sobre la placa arteriosclerosa inducida experimentalmente en pollos alimentados con huevos. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Godin DV, Garnett ME, Cheng KM, Nichols CR. Sex-related alterations in antioxidant status and susceptibility to atherosclerosis in Japanese quail. *Can J Cardiol* 1995; 11(10): 945-51.
- Grollman A, Ashworth C, Suki W. Atherosclerosis in the chicken. *Arch Pathol* 1963; 75:7556-64.
- Hadjiisky P, Bourdillon MC, Grosogeat Y. Experimental models of atherosclerosis. Contribution, limits and trends. *Arch Mal Coeur Vaiss* 1991; 84(11): 1593-603.
- Iwasaki H, Oku H, Toda T, Nasu T, Miyagi T, Chinen L. Increased cholesterol absorption by hyperlipidemia atherosclerosis prone (LAP) Japanese quail. *J Nutr Sci Vitaminol* 2000; 46(5): 235-39.
- Miller LE, Krista LM, Brake J, Bolden SL, McDaniel GR, Mora E. Effects of caponization on body weight, atherosclerosis and cardiovascular variables in hypertensive and hypotensive turkey lines. *Poultry Sci* 1985; 64(5): 1002-14.
- Ojerio AD, Pocak GJ, Clarkson TB. Diet-induced atherosclerosis and myocardial infarction in Japanese quail. *Lab Anim Sci*. 1972; 22: 33-39.
- Orita S, Masegi T, Itou K, Kawada M, Yanai T, Ueda K. Spontaneous aortic atherosclerosis in layer chickens. *J Comp Path* 1994; 110: 341-47.
- Pauletto P, Scannapieco G, Vescovo G, Angelini A, Dalla Libera L, Dal Palu C. Catecholamine-induced cardiovascular disease in the spontaneously hypertensive and atherosclerotic turkey. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1988; 10(6): 357-62.
- Penn A. Determination of the atherogenic potential of inhaled carbon monoxide. *Res Rep Health Eff Inst* 1993; 57: 1-20.
- Pick R, Stamler J, Rodbard S. The inhibition of coronary atherosclerosis by estrogens in cholesterol-fed chicks. *Circulation* 1952; 6: 276-80.

- Prichard RW, Clarkson TB, Lofland HB. Myocardial infarcts in pigeons. *Am J Pathol* 1963; 43: 651-59.
- Reagan JW, Miller LR, St. Clair RW. In vivo clearance of low density lipoprotein in pigeons occurs by a receptor-like mechanism that is not down-regulated by cholesterol feeding. *J Biol Chem* 1990; 265: 9381-91.
- Schwenke DC, St. Clair RW. The accumulation of <sup>125</sup>I-tyramine cellobiose labeled LDL is greater in the atherosclerosis-susceptible region of White Carneau pigeon aorta and further enhanced once atherosclerotic lesions develop. *Arterioscler Thromb* 1992; 12(4): 446-60.
- Shih JC. Atherosclerosis in Japanese quail and the effect of lipoic acid. *Fed Proc* 1983; 42(8): 2494-507.
- Shih JC, Pullman EP, Kao KJ. Genetic selection, general characterization and histology of atherosclerosis-susceptible and -resistant Japanese quail. *Atherosclerosis* 1983; 49: 41-53.
- Shih JC, Kelemen DW, Landers SC. Culture characterization and viral infection of aortic smooth muscle cells from Japanese quail susceptible to atherosclerosis. *Exp Mol Pathol* 1994; 61(3): 191-202.
- St. Clair RW. Atherosclerosis regression in animal models: current concepts of cellular and biochemical mechanisms. *Prog Cardiovasc Dis* 1983 a; 26: 109-32.
- St. Clair RW. Metabolic changes in the arterial wall associated with atherosclerosis in the pigeon. *Fed Proc* 1983 b; 42(8): 2480-85.
- St. Clair RW. The contribution of avian models to our understanding of atherosclerosis and their promise for the future. *Lab Anim Sci* 1998; 48(6): 565-68.
- Texon M. The hemodynamic concept of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 1960; 5: 291-94.
- Weiss HS. Variation in appearance, cholesterol concentration and weight of the chicken aorta with age and sex. *J Gerontol* 1959; 4: 19.
- Wong HY. The cockerel as an animal model for atherosclerosis research. *Adv Exp Med Biol* 1975; 63: 381-91.
- Yuan YV, Kitts DD, Godin DV. Influence of dietary cholesterol and fat source on atherosclerosis in the Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Br J Nutr* 1997; 78(6): 993-1014.