

Escuela de Cardioangiología de la Universidad de Barcelona
(Director: Prof. J. Gibert-Queraltó)

La aterosclerosis inducida por el colesterol y sus mecanismos de inhibición

I. Balaguer-Vintró

(Recibido para publicar el 12 de enero de 1954)

Esta comunicación tiene por objeto exponer un tipo óptimo de aterosclerosis inducida por el colesterol en un animal omnívoro, el polluelo, que nos ha servido de pauta para ulteriores investigaciones y al mismo tiempo estudiar los mecanismos de una posible acción inhibitoria o frenadora por la adición de diversos compuestos químicos capaces de interferir el metabolismo de los lípidos.

Si bien las conclusiones a que llegamos han sido ampliamente debatidas en numerosas publicaciones extranjeras, nos ha parecido útil dar a conocer nuestros primeros trabajos experimentales sobre aterosclerosis, efectuados en 1950, como prolegómeno de nuestros posteriores estudios encaminados a la comprensión del íntimo mecanismo bioquímico de la aterosclerosis, tanto experimental como humana.

Material y Métodos

Se seleccionaron 50 polluelos de un mes de edad. Con ellos se formaron cinco lotes, colocándolos en jaulas individuales. Uno de los lotes sirvió de testigo, manteniéndose la alimentación habitual con salvado. Los restantes lotes fueron alimentados con la dieta habitual, a la que se añadió colesterol disuelto en la mínima cantidad de aceite vegetal, en la proporción de 4 %. La cantidad de disolvente usada nos alejó de los inconvenientes observados por los trabajos iniciales de Horlick y Katz (6).

En uno de los cuatro últimos lotes se añadió a la alimentación inositol magnésico en la proporción de 10 g. %; en otro, metio-

nina en la misma proporción, y finalmente, en un tercero, se añadió ioduro potásico en cantidad de 1'6 g. %. De tal forma quedaron establecidos los cinco lotes en la forma siguiente :

- Lote I. Alimentación ordinaria.
- Lote II. Al. ord. + 4 g. % colesterol.
- Lote III. Al. ord. + Col. + 10 g. % metionina.
- Lote IV. Al. ord. + Col. + 10 g. % inositol magnésico.
- Lote V. Al. ord. + Col. + 1'6 g. % ioduro potásico.

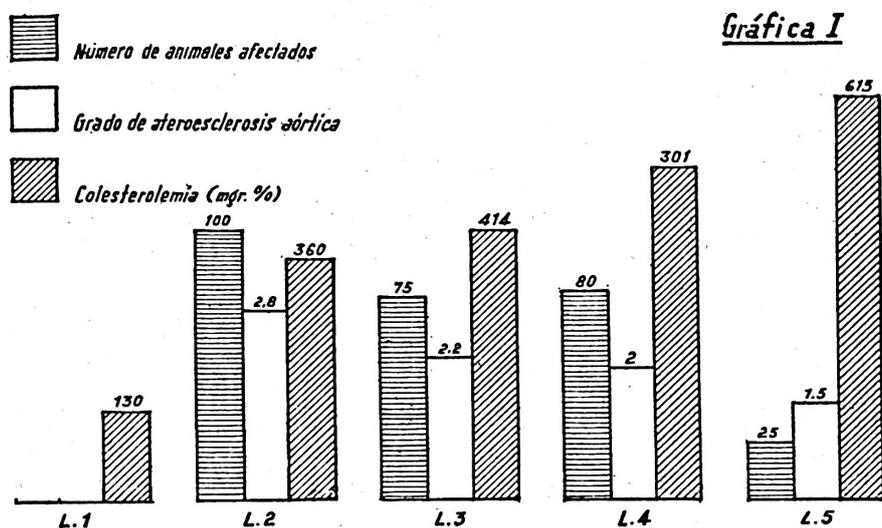
Todos los animales estuvieron sometidos a la dieta correspondiente durante 12 semanas. Se controló el aumento de peso de forma periódica. Al final fueron sacrificados todos los animales, extrayéndose previamente sangre por punción intracardíaca. En las muestras se determinó la colesterinemia por la técnica de A. Sols (11).

En la necropsia se determinó el peso del hígado y la existencia e intensidad de degeneración grasa en la víscera hepática. Dicha intensidad fué medida de acuerdo con una escala de cuatro grados, de forma semejante a la usada para evaluar el grado de aterosclerosis en la pared arterial. Asimismo se determinó la frecuencia y la intensidad de las lesiones aterosclerosas microscópicas de la aorta torácica. Los exámenes histológicos por tinción con Sudan III confirmaron la presencia de depósitos grasos en la íntima vascular. La división del grado de aterosclerosis en cuatro grados se hizo de acuerdo con la clasificación adoptada por Katz y colaboradores.

Resultados

La síntesis de los resultados obtenidos puede verse en el cuadro y las dos gráficas adjuntas. Se observó una reducción del peso en todos los grupos sometidos a la dieta con colesterol solo o asociado. Esta reducción es más acentuada en los lotes II y V, es decir, en los que tomaron la dieta con colesterol y en los de la mezcla de colesterol y ioduro potásico. En cambio, la reducción es menor en los que tomaron colesterol y metionina y mínima en los que tomaron colesterol e inositol magnésico. La reducción en el peso quizá sea atribuible al aceite vegetal usado como disolvente del colesterol por interferencia en la absorción intestinal de colesteroína, pese a la menor proporción usada por nosotros de disolvente. [Dauber y Katz (1, 2) y Stamler y colaboradores (14).]

Había degeneración grasa del hígado en todos los grupos, excepto el de los testigos. En cuanto al grado de dicha degeneración, podían distinguirse dos grupos, siendo más acentuada en los

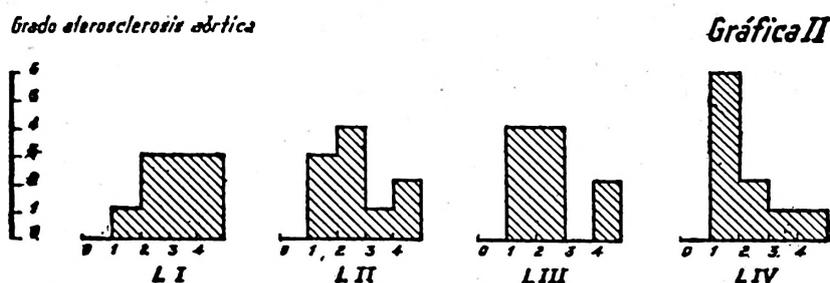


lotes II (colesterol solo) y en el IV (colesterol, más inositol magnésico) En ambos grupos había simultáneamente una disminución del peso del hígado.

El grupo testigo estaba libre de lesiones aterosclerosas en la aorta torácica. Todos los animales a cuya dieta se añadió exclusivamente colesterol presentaban grados más o menos avanzados

	Peso	Peso hígado	Degeneración grasa del hígado	Aterosclerosis aorta torácica n.º	grado	Colesterolemia (mg. %)
I. Controles	675	19	0	0	0	130
II. Colesterina (4 %)	567	16	3	100	2'8	360
III. Colesterina (4 %) + Metionina (10 gr. %)	620	22	1'2	75	2'2	414
IV. Colesterina (4 %) + Inositol (10 gr. %)	665	19	3	80	2	501
V. Colesterina (4 %) + Ioduro potásico (1'6 gr. %)	570	22	1	25	1'5	615

de aterosclerosis en la aorta torácica. Dentro de los restantes grupos hubo la siguiente proporción: 80 % de los que tomaban colesterol e inositol magnésico, 75 % de los que tomaron colesterol y metionina y 25 % de los que tomaron colesterol y yoduro potásico. En cuanto al grado de lesiones, había una gradación decreciente entre el grupo II, con un promedio de 2'8; el



grupo III, de promedio 2'2; el grupo IV, de promedio 2, y el grupo V, de promedio 1'5, aunque cabe destacar que en todos los grupos, excepto los controles, había animales con lesiones de la máxima intensidad (gráfico II).

La colesterolemia media del grupo testigo fué de 130 mg., mientras que en los demás grupos las cifras fueron mucho más altas. Los valores máximos corresponden al grupo que tomaba colesterol y yoduro potásico (615 mg.), siendo los restantes valores decrecientes en el orden que a continuación señalamos: 501 mg. en el grupo con colesterol e inositol magnésico, 414 mg. en el grupo con colesterol y metionina, y, finalmente, 360 mg. en el grupo con colesterol (gráfico I).

Discusión

La inducción de la aterosclerosis en la experimentación animal por administración del colesterol en la dieta ha sido, durante muchos años, uno de los campos más fructíferos para comprender el íntimo mecanismo de la aterosclerosis. Nosotros hemos escogido el polluelo de un mes como animal de experimentación por ser, entre los animales omnívoros, el más manejable, tanto por el coste del experimento como por la facilidad en la inducción de lesiones.

El uso de los llamados agentes lipotrópicos en la prevención de la aterosclerosis se basaba en una supuesta acción movilizadora de las grasas que se intentó comprobar en clínica (9, 17). Como puede observarse en nuestros resultados, ni la metionina

ni el inositol magnésico parecieron influir de un modo decisivo en la frecuencia, ni tampoco en la intensidad de la aterosclerosis experimental, si bien es patente una cierta acción, quizá meramente retardadora, en la evolución del proceso. En cambio, tanto en el grupo que tomó metionina como en el que tomó inositol magnésico, se obtuvieron cifras más altas de colesterolemia que en el grupo sometido exclusivamente a la dieta con colesterol. Nuestro punto de vista negativo respecto a la acción de los agentes lipotrópicos en la aterosclerosis se ha visto confirmado por Gofman y col. (4) al comprobar que la colina no determina variaciones en la cantidad de partículas «G» en la aterosclerosis inducida. En una detallada revisión, Davidson (3) niega la existencia de cualquier acción atribuible a los lipotrópicos sobre la aterosclerosis experimental. Sin embargo, y de acuerdo con nuestras observaciones, Stamler y col. (12, 13), encuentran, junto a la ineficacia de cualquier acción protectora, un aumento en las cifras de la hipercolesterolemia y la evidente inhibición de la lipoidosis hepática.

Ello prueba que el grado de aterosclerosis no está en relación directa con la cifra total de colesterol en sangre y obliga a estudios más detenidos acerca del estado físicoquímico de los lípidos de la sangre. Por otra parte, nos sugiere la posibilidad de comprender la acción frenadora en la velocidad de depósito de grasa a expensas de variaciones en la solubilidad de los lípidos. Admitiendo la relación sugerida por Gofman entre las lipoproteínas Sf. 10-20 y la aterosclerosis; el mecanismo de protección consistiría en una reorientación de las lipoproteínas, con las consiguientes variaciones en la carga eléctrica, transformándose en lipoproteínas tipo Sf 2-10. Todo ello comprendería variaciones en el íntimo estado físicoquímico de los lípidos, sin que el contenido en sangre total de sus componentes varíe, e incluso admitiendo la posibilidad de cifras más elevadas, siempre que su combinación lipoproteica no sea aterógena.

Por otra parte, la hipercolesterinemia por los lipotrópicos ha sido interpretada por Gubner y Ungerleider (5) como secundaria al aumento de colesterol excretado por la bilis y reabsorbido por el intestino por remoción de los ácidos grasos esterificados del hígado.

La acción del ioduro potásico sobre la aterosclerosis experimental plantea un problema de difícil interpretación. El sorprendente resultado obtenido por nosotros — menor número de animales afectados, promedio de intensidad más bajo y máximas cifras de colesterolemia —, ha sido confirmado o desechado por otros numerosos trabajos (7). Para algunos el ioduro potásico es capaz de aumentar la colesterolemia, a la vez que la aterogénesis,

como ha comprobado Rosenthal (10) en el conejo. Dicha acción se relaciona con la posible intervención del yoduro potásico en el metabolismo tiroideo. Se ha sugerido por Lange (8) que la hormona tiroidea sería capaz de frenar la aterosclerosis por disminución de la permeabilidad capilar, a lo que Stamler y colaboradores (16) oponen serios reparos, por intensificación de las oxirreducciones o por aumento en la degradación hepática de las grasas. Sin embargo, resulta difícil llegar a una conclusión definitiva por cuanto, pese al menor número de animales afectados y a la menor intensidad de las lesiones en el grupo que tomaron colesterol y yoduro potásico, había algún animal con aterosclerosis en su grado máximo.

A nuestras observaciones puede objetarse el hecho de haber usado cantidades altas de colesterol, con la consiguiente obtención de colesterinemias sorprendentemente altas para su comparación con la clínica humana. Tal inconveniente debe ser tenido muy en cuenta antes de utilizar cualquier deducción experimental para su aplicación en la aterosclerosis humana. De todas formas, nosotros pensamos que entre ambos procesos existe una simple gradación de velocidad, puesto que las mismas lesiones son obtenidas en una fracción de tiempo mucho menor. Los trabajos de Stamler y Katz (15), provocando la aterosclerosis por la administración de dietas con 0'25 % de colesterol durante 35 semanas, lo que condiciona un grado muy moderado de elevación de la colesterolemia, demuestran plenamente la identidad del proceso arterial, obtenido más lentamente cuanto menor sea la alteración en el metabolismo de los lípidos.

De todas formas, no nos parece inútil insistir en los peligros de la generalización de los datos experimentales a la clínica humana. A nuestro juicio, la adopción de los hallazgos experimentales a la clínica de la aterosclerosis ofrece las siguientes dificultades:

a) Existe una serie de problemas metabólicos no dilucidados que invalidan en gran parte las conclusiones obtenidas en animales, incluso previas las precauciones adoptadas en las últimas dietas de Katz y Stamler (7). Si durante muchos años los trabajos experimentales se inutilizaron por el uso de animales herbívoros, no es menos cierto que los gallináceos ofrecen todavía serios reparos.

b) Las determinaciones bioquímicas precisas para seguir la evolución de la aterosclerosis inducida y para controlar la evolución de la aterosclerosis humana, envuelven serias dificultades técnicas, al mismo tiempo que ninguna de ellas es de una especificidad absoluta. Los recientes trabajos de Gofman y col. (4) sobre lipoproteínas y el estudio de la patente de los lípidos por electro-

foresis sobre papel, que hemos introducido en la pauta de exploración de los enfermos del departamento asistencial de la Escuela de Cardioangiología de la Universidad de Barcelona, nos permiten por primera vez el uso de una prueba específica, capaz de ulteriores enseñanzas.

c) Las comprobaciones de los procedimientos terapéuticos de la aterosclerosis en la clínica humana deben ser miradas con extraordinaria cautela. La difícil relación entre mejora clínica y electrocardiográfica en la insuficiencia coronárica de una parte, y de otra, el contrasentido de pretender obtener una mejoría en la circulación troncular obturada de la extremidad inferior por la acción medicamentosa sobre la composición lipídica de la sangre, obligan a comprender la abundancia de trabajos contradictorios y el peligro del entusiasmo demasiado prematuro.

Conclusiones

I. Se ha estudiado la inducción de la aterosclerosis por la adición de 4 % de colesterol en la dieta de polluelos de un mes, durante doce semanas, observándose simultáneamente la posible acción frenadora de la metionina, el inositol magnésico y el ioduro potásico.

II. Los animales de los grupos en los que se añadió alguna de las sustancias enumeradas a la dieta con colesterol, estaban globalmente menos afectados, tanto en el número como en la intensidad, pero en todos los grupos hubo algún animal con lesiones aterosclerosas de máxima intensidad.

III. Había una relación inversa entre las cifras de colesterolemia total y la intensidad de la afección viéndose las colesterolemias más altas en el grupo que tomaba colesterol y ioduro potásico. Se sugiere la posibilidad de un estado físicoquímico del colesterol que impida su precipitación en las paredes arteriales y se relaciona con los hallazgos recientes en el estado físicoquímico de las lipoproteínas en la aterosclerosis.

IV. Se exponen los motivos que entorpecen el estudio de la aterosclerosis en condiciones experimentales y las dificultades en trasladar sus conclusiones a la clínica humana.

Summary

I. A study has been carried out of the induction of atherosclerosis by the addition of 4 % of cholesterol to the diet of chicks a month old during 12 weeks, when the possible braking action of methionin, magnesium inositol and potassic iodide is observed simultaneously.

II. The animals of those groups in which some of the mentioned substances had been added the cholesterol diet were on the whole less affected in number as well as in intensity, but in all the groups there was one or other animal with atherosclerotic lesions of greater intensity.

III. There was an inverted relation between the cyphers of total cholesterolemia and the intensity of the affection the highest cholesterolemics being observed in the group that were given cholesterol and potassic iodide. The authors suggest the possibility of a physiochemical state of cholesterol which prevents its precipitation in the arterial walls

and is connected with the recent finding in the physiochemical state of lipoproteins in atherosclerosis.

Bibliografía

1. DAUBER, D. V. y KATZ, L. N. : «Experimental cholesterol atheromatosis in an omnivorous animal: the chick». *Arch. Path.* **34**: 937, 1942.
2. DAUBER, D. V. y KATZ, L. N. : «Experimental atherosclerosis in the chick». *Arch. Path.* **36**: 473, 1943.
3. DAVIDSON, J. D. : Diet and lipotropic agents in atherosclerosis». *Bull. Am. J. Med.* **11**: 736, 1951.
4. GOFMAN, J. W. : «Diet and lipotropic agents in atherosclerosis». *Bull. New York Acad. Med.* **26**: 279, 1952.
5. GUBNER, R. y UNGERLEIDER, H. : «Arterioesclerosis». *Am. J. Med.* **6**: 60, 1949.
6. HORLICK, L. y KATZ, L. N. : «The relationship of atheromatosis development in the chicken to the amount of cholesterol added to the diet». *Am. Heart. J.* **38**: 336, 1949.
7. KATZ, L. N. y STAMLER, J. : «Experimental Atherosclerosis». Charles C. Thomas. Springfield, 1953.
8. LANGE, R. : «Capillary permeability in myxedema». *Amer. J. M. Soc.* **208**: 5, 1944.
9. MORRISON, L. M. y GONZÁLEZ, W. F. : «Result of treatment of coronary atherosclerosis with Cholina». *Amer. Heart J.* **39**: 728, 1950.
10. ROSENTHAL, S. R. : «Studies in atherosclerosis chemical experimental and morphologic», *Arch. Path.* **18**: 473, 1934.
11. SOLS, A. : «Determinación directa de colessterina total en el suero». *R. esp. Fisiol.* **3**: 225, 1947.
12. STAMLER, J., BOLENE, C., HARRIS, R. y KATZ, L. N. : «Effect of choline and inositol on plasma and tissue lipids and atherosclerosis in the cholesterol-fed chick». *Circulation.* **2**: 714, 1950.
13. STAMLER, J., BOLENE, C., HARRIS, R. y KATZ, L. N. : «Effect of choline and inositol on plasma and tissue lipids and on spontaneous and stilbestrol-induced atherosclerosis». *Circulation.* **2**: 722, 1950.
14. STAMLER, J., BOLENE, C., LEVINSON, E., DUDLEY, M. y KATZ, L. N. : «Blood and tissue lipids in the chick fed cholesterol in various forms». *Am. J. Physiol.* **155**: 470, 1950.
15. STAMLER, J. y KATZ, L. N. : «Production of experimental cholesterol-induced atherosclerosis in chicks with minimal hypercolesterine and organ lipoidosis». *Circulation.* **2**: 705, 1950.
16. STAMLER, J., SILBER, E. N., MILLER, A. J., AKMAN, L., BOLENE, C. y KATZ, L. N. : «The effect of thyroid and of dinitrophenol-induced hypermetabolism on plasma and tissue lipids atherosclerosis in the cholesterol-fed chick». *J. Lab. Clin. Med.* **35**: 351, 1953.
17. STEINER, A. : «Effect of choline in the prevention of experimental aortic atherosclerosis». *Arch. Path.* **45**: 327, 1948.