

## USO DEL POLLO COMO BIOMODELO EXPERIMENTAL EN ARTERIOSCLEROSIS

Use of the chicken as experimental biomodel in atherosclerosis

**I. Ayala<sup>1</sup>, B. García Pérez<sup>2</sup>, G. Doménech<sup>1</sup>, A.M<sup>a</sup>. Montes<sup>1</sup>, N. Ortega<sup>2</sup>, J.V. Ortega<sup>3</sup>, M<sup>a</sup>.T. Sánchez Polo<sup>2</sup>**

1: Dpto. Medicina y Cirugía Animal. Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia. Campus de Espinardo s/n, 30100. Murcia.

2: Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca. Murcia.

3: Hospital los Arcos. Murcia

Correspondencia a: I. Ayala. Tel.: 968367070, Fax: 968364147. E-mail: iayape@um.es

### RESUMEN:

En este artículo se describen los principales trabajos que justifican el interés del pollo en el estudio de la arteriosclerosis. Se comentan estudios de arteriosclerosis espontánea y arteriosclerosis experimental o inducida, así como los modelos mutantes. Se detallan los más importantes métodos experimentales aplicados, diferenciando los estudios en animales intactos, con y sin denudación, los estudios en arterias aisladas, los llevados a cabo en cultivos celulares y los que emplean la aféresis.

**Palabras clave:** Arteriosclerosis, pollo, biomodelo experimental.

### ABSTRACT:

The most important works on experimental atherosclerosis in chickens are described in this article. Studies of spontaneous atherosclerosis, induced atherosclerosis and also mutant models are mentioned. The most relevant experimental methods achieved are described, including differences between studies in intact animals, with and without denudation, studies in isolated arteries, in cell cultures, and studies where apheresis has been used.

**Keywords:** Atherosclerosis, chicken, experimental biomodel.

## A) INTRODUCCIÓN

La arteriosclerosis en animales fue inducida con un propósito muy diferente al de estudiar este proceso. En 1908, Ignatowsky, estudiando los efectos de una dieta rica en proteínas observó engrosamientos de la íntima de las aortas con formación de grandes células claras, semejantes a las lesiones aparecidas en arterias humanas.

En 1913, Anitschow obtuvo lesiones semejantes con dietas de colesterol puro disuelto en aceite vegetal. Desde entonces, ha supuesto un problema encontrar un modelo animal adecuado para evaluar la eficacia de un régimen antiaterogénico, a pesar de existir una gran variedad de animales capaces de desarrollar arteriosclerosis, especialmente bajo dietas ricas en colesterol y ácidos grasos. Pollos, palomas, loros y pavos están especialmente predispuestas a desarrollar la enfermedad de forma espontánea.

En 1933, Fox defiende a las aves frente a las demás especies como modelo experimental, de ahí que posteriormente Horlick y Katz, en 1949, seleccionen el pollo para la producción de arteriosclerosis experimental.

## B) ARTERIOSCLEROSIS ESPONTÁNEA

En gallos, la afectación más común se localiza en aorta abdominal, como lesiones blancas o amarillentas, longitudinales, lisas o elevadas en la aorta abdominal (Horlick y Katz, 1949). Ocasionalmente se observan pequeñas placas a modo de cabezas de alfileres en los orificios adyacentes a las ramas de la aorta. En gallinas observaron las mismas lesiones en aorta torácica descendente y abdominal. Anteriormente, Chaikoff et al. (1948), observaron estos depósitos también en aorta torácica en gallos.

Posteriormente, en 1980, Gupta y Grewal describen la frecuencia, distribución, tipos y morfología de las lesiones de la arteriosclerosis espontánea ocurrida en pollos. Utilizaron

tinciones con Sudan IV para la observación macroscópica y cortes histológicos con hematoxilina-eosina para la microscopía óptica. Fueron clasificadas como áreas sudanófilas difusas, estrías grasas y placas fibrosas según los criterios recomendados por el grupo de estudio de la Organización Mundial de la Salud (OMS) sobre la arteriosclerosis. Las lesiones sudanófilas aparecían en aves jóvenes en la aorta torácica proximal y desaparecían en pollos viejos. Las estrías grasas se dan más en la aorta abdominal. La placa fibrosa sólo aparece en la aorta abdominal en pollos de alrededor de un año de edad.

Unos años más tarde se describen los cambios histológicos, las lesiones arterioscleróticas tempranas y los cambios que ocurren con la edad en pollos en crecimiento de ambos sexos de 30 a 130 días y de gallinas ponedoras de 500 días (Orita et al., 1994). Las lesiones fueron clasificadas en seis estadios: (I) Edema y degeneración de la íntima. (II) Cambios fenotípicos de las células musculares lisas de la media. (III) Capa celular. (IV) Placa celular-fibrótica. (V) Placa fibrótica. (VI) Lesiones ateromatosas.

## C) ARTERIOSCLEROSIS EXPERIMENTAL O INDUCIDA

Horlick y Katz, en 1949, describen las lesiones en arteriosclerosis experimental. Se localizan fundamentalmente en tronco braquiocefálico y aorta torácica ascendente, y aumenta la incidencia y gravedad de las lesiones abdominales.

Estos autores trataron de cuantificar la incidencia y grado de lesiones mediante dietas con diferente concentración de colesterol (0,5, 1, 2 y 4%) disuelto en aceite de algodón al 20% (Horlick y Katz, 1949). A las cinco semanas observaron que la incidencia y gravedad de las lesiones aumentaban con la cantidad de colesterol ingerida. Las lesiones eran más frecuentes en aorta torácica que en la abdominal, y también aparecían en las arterias pulmonares, incrementándose con el tiempo de administración y la cantidad ingerida. Sin embargo, la

incidencia y gravedad de las lesiones fue mayor a las 10 semanas que a las 15. No obstante, se vio una relación directamente proporcional entre la cantidad de colesterol ingerida en la dieta y el colesterol plasmático.

En 1953, Katz y Stamler alimentaron a pollos con una dieta para provocar una hipercolesterolemia mínima de 99-166 mg/dl, siendo en el grupo control de 68-142 mg/dl. Observaron un aumento de la incidencia de arteriosclerosis en la aorta torácica, mientras que a nivel abdominal la incidencia se mantenía igual, aunque aparecían de forma más grosera en los tratados con la dieta con colesterol.

El **primer estudio de regresión de la arteriosclerosis** en pollos fue diseñado en 1949 por Horlick y Katz. A 155 pollos de raza White Leghorn, de 6 a 8 semanas de vida les administraron una dieta ad libitum con colesterol al 2% en aceite de semilla de algodón al 20% (en una experiencia previa, esta dieta provocaba arteriosclerosis en el 100% de los pollos). A la décima semana los pollos fueron divididos en tres grupos. Uno de ellos siguió con la dieta rica en colesterol; otro cambió a dieta normal, y el tercero se cambió a una dieta especialmente baja en grasa. Desde el principio del estudio se mantuvo un grupo control con dieta normal. Desde la décima semana y a intervalos de 3-4 semanas las aves fueron sacrificadas, analizándose sangre, aortas y órganos. Las muestras fueron teñidas con hematoxilina-eosina y con Sudán IV. Observaron que: A) La dieta al 2% de colesterol con aceite de semilla de algodón durante 24 semanas provocó un aumento progresivo del colesterol en sangre. Se dio un incremento severo de la arteriosclerosis durante 15 semanas con una estabilización posterior, produciéndose nuevamente un incremento en las semanas 23-24 del experimento. B) El cese de la dieta hipercolesterolémica provoca una disminución de la colesterolemia hasta valores normales en un rango de tres semanas. Las lesiones tempranas regresan completamente, mientras que las más severas sufren procesos de reparación y

regeneración. C) La regresión de las lesiones fue similar en los pollos alimentados con la dieta normal y en aquellos que tomaron la dieta baja en grasa, tras el cese de la dieta aterogénica. D) Apareció un gran espectro de lesiones en los pollos alimentados con la dieta rica en colesterol, desde incrementos en la sustancia depositada en la íntima, a placas de células espumosas muy extensas, metaplasia hialina y cartilaginosa o depósitos de calcio en gránulos y láminas. E) El cese de la dieta hipercolesterolémica vino seguido por cambios fibróticos en las lesiones de la aorta torácica y abdominal, disminución de células espumosas y grasas, y por la calcificación de abscesos ateromatosos. También aparecieron células "scavenger" cargadas de grasa en la íntima. F) Los controles mostraron pocas lesiones macroscópicas pero numerosas microscópicas. En la aorta abdominal las lesiones espontáneas se caracterizaban por fibrosis en la íntima, con depósitos sudanófilos y gránulos cálcicos en la unión íntimo medial. G) Insinuaron la presencia de un mecanismo fisiológico en la regresión del ateroma en los animales y el hombre. H) Demostraron que los fenómenos de regresión en los pollos son más rápidos que en el conejo, ya que en éstos se precisan de 3 a 4 meses para una recuperación de los niveles plasmáticos de colesterol tras la retirada de la dieta aterogénica y de 3 a 4 años para la regresión respecto a los 4-6 meses en el pollo.

En 1965, Carda Aparici y García Partida observaron que el efecto de los quelatos flavónico-magnésicos es significativo como inhibidor de la hipercolesterolemia e hiperlipemia originadas por la administración oral de colesterina a gallinas ponedoras de once meses de edad.

En 1978, David et al. concluyeron que las grasas insaturadas, por sí solas, no producen arteriosclerosis, ni protegen a los vasos de su desarrollo administradas junto con colesterol.

También se demostró que el estradiol añadido a una dieta rica en colesterol permite potenciar la arteriosclerosis, dando un acúmulo de

vacuolas lipídicas, mayor cantidad de lípidos extracelulares y aumentando la muerte celular respecto a dietas con colesterol únicamente, produciendo depósitos severos de lípidos a través del engrosamiento íntegro en aorta descendente y cambios degenerativos y arteriosclerosis en arterias coronarias. La combinación de testosterona y estradiol produce un empequeñecimiento de los pollos y un aumento en las mitosis y en la degeneración de las células musculares lisas (Toda et al., 1981).

Siller (1961), mediante una dieta a partir de huevos obtiene una arteriosclerosis menos xantomatosa y más fibrosa, más parecida aún a la desarrollada en humanos.

Fabricant et al. (1978) demostraron un incremento de la enfermedad en pollos infectados por herpesvirus, confirmando así la teoría de una posible asociación entre infección y arteriosclerosis propuesta a principios de siglo XX. Desde entonces existen numerosos estudios implicando a diferentes agentes microbianos.

También se ha inducido la arteriosclerosis en pollos mediante la injuria con balón en aorta abdominal para estudios de reestenosis (Lucas et al. 1996).

Wong (1975) resume, a partir de evidencias experimentales, las ventajas del pollo como biomodelo de arteriosclerosis: A) Animal omnívoro. B) Barato y de fácil manejo para la investigación prolongada. C) Capaz de desarrollar arteriosclerosis espontánea. D) Capaz de desarrollar arteriosclerosis con dietas hipercolesterolémicas con un ligero pero significativo incremento del colesterol plasmático. E) Los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos son similares a los de humanos. F) La composición de las lipoproteínas HDL y LDL y de quilomicrones es similar a la de humanos. G) No hay diferencias entre las lesiones desarrolladas en pollos y las de humanos.

A esto podríamos añadir que son animales bípedos (lo que afecta a la distribución de las lesiones) e hipertensos por naturaleza. Estas con-

diciones, junto al menor tiempo necesario para la regresión de las lesiones, hace que el pollo sea más adecuado para este tipo de estudios que el conejo, sin olvidar la importancia del ratón transgénico deficiente en apo E como modelo para estudios defendido por St Clair en 1998.

## **D) MODELOS MUTANTES PARA LA INVESTIGACIÓN DE LA ARTERIOSCLEROSIS EN POLLOS**

Aunque no existen modelos transgénicos como en el ratón, si existen dos mutaciones en el pollo:

### **D.1) Pollos con déficit de receptores para las LDL y VLDL**

Al igual que ocurre en humanos con la hipercolesterolemia familiar, en el conejo se da también la hiperlipidosis hereditaria familiar, que consiste en una deficiencia de receptores para las LDL, desarrollando así una arteriosclerosis precoz, siendo utilizado por tanto para el estudio de la hipercolesterolemia familiar en modelos experimentales de la arteriosclerosis (Fan y Watanabe, 2000)

En 1974, Ho et al. describen la existencia de gallinas no ponedoras con hiperlipemia hereditaria. En 1983, Simpon y Harms publican la existencia de síndrome de hígado graso en estas gallinas hipercolesterolémicas, incapaces de poner huevos. En las necropsias se observaron grandes depósitos grasos en hígado e involución de los huevos con ausencia de yema. En 1995, Bujo et al. demostraron la presencia de una mutación espontánea en el grupo de genes de los receptores LDL en el síndrome hepático graso de estas gallinas. Se describe una mutación natural en los receptores VLDL dando fenotipo anormal con ausencia de ovulación, hipercolesterolemia y arteriosclerosis precoz y severa.

## D.2) Pollos con déficit de HDL

En 1990, Poernama et al. describen un síndrome de déficit de HDL ligado al sexo en pollos. Este pollo, llamado WHAM (Wisconsin hypo alfa mutante) tiene una reducción del 70-90% de los niveles de colesterol HDL y Apolipoproteína A-I (apo A-I).

## E) MÉTODOS EXPERIMENTALES APLICADOS PARA LA DEMOSTRACIÓN DE LOS EFECTOS ARTERIOSCLEROSOS EN POLLOS

Existen diversos métodos. Se han utilizado animales intactos, arterias aisladas y cultivos celulares. Los principales trabajos realizados en pollos hasta ahora son:

### E.1) Estudios en animales intactos:

Son los más utilizados. Se pueden estudiar características morfométricas y bioquímicas de las lesiones ateromatosas, la respuesta de reparación frente a diferentes agresiones como estimulación eléctrica o catéter balón. También se pueden evaluar factores de riesgo como niveles de lipoproteínas, presión arterial y medir la permeabilidad endotelial a marcadores de macromoléculas inyectados.

Los ateromas desarrollados en estos animales pueden ser por agresiones a todo el vaso como en casos de dietas ricas en colesterol, pollos con alteraciones genéticas que desarrollan hipercolesterolemia endógena e hipertensión (estudios de no denudación), o por estímulos que afecten a zonas concretas de los vasos, por ejemplo estímulos térmicos, mecánicos, etc. (estudios de denudación o injuria vascular).

#### *E.1.a) Estudios en animales intactos sin denudación:*

Son los más utilizados, sobretudo con dietas ricas en colesterol, y con pollos de la raza White

Leghorn. Estos estudios pueden ser a su vez de progresión o de regresión.

**E.1.a.1) Estudios de progresión:** Consiste en provocar la enfermedad y al mismo tiempo aplicar un tratamiento para influir en el desarrollo de la enfermedad. De los primeros trabajos de este tipo, mencionar el de Valdés et al. en 1976, observando la influencia de la insulina y los antidiabéticos orales sobre la progresión de la arteriosclerosis desarrollada en pollos mediante una dieta a base de huevos ad libitum.

Ese mismo año se publican los efectos beneficiosos de los  $\beta$ -bloqueantes sobre la arteriosclerosis inducida en gallos (Reinis et al., 1976). Al año siguiente se publica el efecto negativo de algunos carcinógenos y del benzo-a-pireno sobre el desarrollo de la ateromatosis en pollos (Albert et al., 1977). En 1982, Patel et al. disminuyen la progresión de la arteriosclerosis mediante la administración de diazepam 0,2mg/kg dos veces al día durante 5 meses en pollos alimentados con dietas ricas en colesterol. Okwusidi et al. (1991) amplían que el efecto del diazepam y ejercicio sobre esta regresión no está relacionado con las hormonas de la hipófisis y adrenales. Posteriormente se descarta que la acción del diazepam se deba a la inhibición de la enzima Lecitin colesterol aciltransferasa (LCAT) (Wong et al., 1992). En 1983, Orimilikwe et al., estudian los efectos del ejercicio y de la guanetidina sobre el colesterol en plasma y la severidad de la arteriosclerosis desarrollada en pollos con dieta aterogénica, observando un efecto beneficioso del ejercicio, no así de la guanetidina. En 1985, Dixit y Joshi demuestran que pollos alimentados con extracto de alfalfa disminuyen los niveles de triglicéridos, LDL, colesterol total, y VLDL colesterol, aumentando los de HDL en plasma. Realizan un estudio comparativo con el clofibrato. Wong et al., en 1987, describen los efectos del meprobamato. Gatón et al. (1988) publican los efectos de la activación del sistema inmunitario mediante el bacilo de Calmette-Guerin (BCG) sobre la arteriosclerosis inducida y demuestran que

sus efectos inhibitorios sobre su desarrollo dependían de la vía de administración y del tiempo en que se realiza. Observaron una inhibición mayor si se administraba el BCG por vía subcutánea 8 semanas antes de la inducción con dieta que si se aplicaba intraperitoneal durante la administración de la dieta. Estos resultados apoyaban la hipótesis de que inmunizaciones a edades tempranas pueden afectar al desarrollo de la arteriosclerosis en edades tardías. En 1989, Smith y Kummerow confirman el efecto antioxidativo de la administración de vitamina E en gallinas genéticamente no ovuladoras que presentan una hiperlipidemia endógena, al observar una disminución en la peroxidación de lípidos y en el desarrollo de arteriosclerosis, aunque no de la hiperlipidemia. Sugirieron que la hiperlipidemia sin peroxidación desarrolla menos enfermedad.

García Pérez (1992) confirma la validez del modelo utilizado anteriormente por Siller (1961) y posteriormente por Valdés et al. (1976) alimentando a pollos con una dieta a base de huevos ad libitum, desarrollando en 8 semanas un área sudanófila medida por planimetría del 67,2% y realiza el primer ensayo terapéutico con ACA (antagonistas del calcio) en pollos comparando por primera vez a los tres grupos principales de ACA (verapamil, diltiazem y nifedipino) por vía oral a dosis clínicas y 10 veces superiores. Obtuvo una disminución significativa del desarrollo de la placa, y del contenido de calcio y colesterol para todos los grupos a dosis 10 veces superiores a las clínicas, y sólo a dosis clínicas en las aves tratadas con nifedipino. Coincide con los trabajos realizados previamente con ACA en conejos por Catapano (1997) en que esta acción es independiente de los niveles de triglicéridos, colesterol total en plasma y de lipoproteínas (LDL y HDL).

Desde la aprobación en 1987 del inhibidor de la Hidroxi-Metil-Glutaril Coenzima A (HMG-CoA) reductasa (Lovastatina) por la Food and Drug Administration, el desarrollo de esta nueva clase de fármacos, llamados estatinas, ha sido imparable y muchos ensayos clínicos en huma-

nos demuestran la disminución de los eventos cardiovasculares, compitiendo actualmente en uso y prevención primaria y secundaria con la aspirina. Sin embargo los trabajos realizados en animales son pocos. En 1989, La Ville et al. realizaron el primer trabajo con estatinas en animales intactos, utilizando conejos hipercolesterolémicos. El primer trabajo con estatinas en pollos fue realizado por Elkin et al. en 1997, observando la reducción de los niveles de colesterol en los huevos tras administrar distintos inhibidores de HMG-CoA y la disminución de triglicéridos y colesterol en plasma. No estudia su efecto sobre el desarrollo de la arteriosclerosis. Lucas et al. en 1998, para valorar la arteriosclerosis acelerada que se produce en los pacientes transplantados y después de angioplastias, utilizan pollos con la enfermedad de Marek (infección por un herpesvirus) que producen una arteriosclerosis acelerada similar a la de humanos. Examinan los efectos de la pravastatina y quinalapril en estas aves alimentadas con dieta rica en colesterol, observando una reducción de la placa pero no de la proliferación linfocítica.

Así, nos planteamos la realización de un nuevo trabajo en pollos para valorar la progresión de la ateromatosis inducida con huevos, administrando 3mg/kg/día de atorvastatina durante 3 meses. El área de la placa sudanófila disminuyó un 67%, disminuyendo también los niveles de colesterol total, colesterol LDL y colesterol NoHDL, sin alteración de los parámetros inflamatorios (proteína C reactiva y fibrinógeno) ni alteraciones en la coagulación (Ortega, 2002).

**E.1.a.2) Estudios de regresión:** Actualmente nuestro grupo está desarrollando un estudio de regresión e intervención en pollos. Utilizamos pollos White Leghorn alimentados con suplementos de colesterol al 2% durante tres meses, tras los cuales sacrificamos algunos de los animales de los grupos control, normales y aterogénicos. Después los dividimos en tres grupos, uno de regresión espontánea (cese de la dieta aterogénica), otro de regresión con ad-

ministración de atorvastatina, y otro de progresión que continua con la dieta aterogénica y se le administra atorvastatina. Todos los grupos serán sacrificados tras un periodo de dos o tres meses. En todos los animales se realizarán estudios detallados de parámetros sanguíneos, planimetría de aorta (tras tinción con Sudán) y cuantificación microscópica con hematoxilina-eosina. Este estudio permitirá comparar en un tiempo prolongado la arteriosclerosis espontánea e inducida, la regresión espontánea e inducida, y la progresión intervenida en las mismas condiciones de estudio.

*E.1.b) Estudios en animales intactos con denudación:*

La reestenosis después de la terapia intervencionista es un problema clínico importante en humanos con una frecuencia del 20-50%. Lucas et al. (1996) publicaron un trabajo en el que defienden la posibilidad de utilizar el pollo como modelo animal para el ensayo e investigación de las capacidades técnicas de los nuevos mecanismos intervencionistas, diseñados para recanalizar arterias, ya que la aorta abdominal del pollo es tortuosa y muscular como las coronarias humanas, y de calibre apropiado para los dispositivos intervencionistas aprobados para estas arterias. Estudian en pollos White Leghorn alimentados con colesterol el desarrollo de placas arterioscleróticas producidas por injurias en la íntima con balón, bajo distintas condiciones, añadiendo suplementos hormonales o vitamina D para agravar las placas. Se detectaron estenosis angiográficas entre el 36-74% en gallos alimentados con colesterol tras la injuria vascular con evidencias histológicas de crecimiento de placa. Examinaron tres mecanismos intervencionistas (angioplastia con láser, atrectomía e implantes de Stent) concluyendo que la injuria arterial mediada con balón, en gallos alimentados con colesterol, produce lesiones proliferativas tempranas, tardías y complejas, habilitando un modelo de estudio sencii-

llo, barato y eficaz en el estudio de la reestenosis arterial.

*E.1.c) Estudios en animales intactos y determinación de factores de riesgo.*

Varios estudios demuestran una correlación inversa entre la concentración de HDL-colesterol y la incidencia de enfermedad cardiovascular. Una asociación similar se ha visto con la Apolipoproteína A-I. Badimon et al. (1990) observaron en conejos la disminución de la progresión de estrías grasas y la regresión de las ya existentes mediante inyecciones semanales de HDL. Pero la relación inversa no es universal, como vieron Poernama et al. (1992) en un estudio con pollos VHAM (mutantes deficitarios en HDL y Apolipoproteína A-I) sometidos a dieta rica en colesterol durante 28 semanas y observados durante una dieta normal de tres años, donde no observaron un incremento de la susceptibilidad a la arteriosclerosis.

Hormonas, vitamina D, calcio y monóxido de carbono aumentan la progresión de la arteriosclerosis, mientras que el ejercicio y el aceite de pescado la disminuyen, como hemos mencionado anteriormente.

**E.2) Estudios en arterias aisladas**

Son menos utilizados, pero son muy útiles para observar el funcionamiento del endotelio y la permeabilidad endotelial en arterias profundas. En 1986, Aksulu et al. demuestran que la respuesta fisiológica de relajación a estímulos de acetilcolina está atenuada en anillos de arterias pulmonares de pollos alimentados con colesterol, siendo este el primer modelo de pollos para cuantificar la disfunción del endotelio. En 1988, Yamaguchi y Nishimura., demuestran que la angiotensina II produce relajación de anillos de aorta de pollos a través de mecanismos endotelio-dependientes. En 1991, Hasegawa y Nishimura demuestran que la relajación inducida en anillos de aorta por la acetilcolina está me-

diada por factores humorales semejantes a los factores relajantes presentes en el endotelio de mamíferos. En 2002, Villamor et al. demuestran que los embriones de pollo tienen una marcada respuesta a la relajación endotelio-dependiente, no afectada por el paso de embrión a pollo, y que el óxido nítrico parece ser el principal mediador de esta respuesta endotelial.

### E.3) Estudios en cultivos celulares

Han contribuido al estudio complementario de la etiología y tratamiento de la arteriosclerosis. En pollos, los cultivos utilizados con mayor impacto han sido los de células infectadas con virus herpes de la enfermedad de Marek, demostrándose la presencia de cristales de colesterol en estas células. Han sido clonadas células de cepas MDV (Marek's disease virus) purificadas genéticamente en pollos libres de patógenos, facilitando experimentos controles diseñados para demostrar los postulados de Koch (Fabricant y Fabricant, 1999).

### E.4) Aferesis

La aféresis es un procedimiento que consiste en la eliminación de los lípidos del plasma sin afectar a las lipoproteínas, parámetros bioquímicos o hematológicos. Ha sido efectiva en el tratamiento de la regresión de la arteriosclerosis en pollo, vaca y cerdo. El pollo también ha servido para valorar la relación de la actividad de la Lecitín colesterol aciltransferasa (LCAT) y sus substratos, la lecitina y el colesterol no esterificado, en pollos hiper y normocolesterolémicos que fueron sometidos a aféresis (Kostner et al., 1997).

### 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

- Aksulu E., Selim C., Turker R.A. 1986. Cholesterol feeding attenuates endothelium-dependent relaxation response to acetylcholine in the pulmonary artery of chickens. *Eur. J.Pharmacol.* 129(3):397-400.
- Albert R.E., Vanderlaan M., Burns F.J., Nishizumi M. 1977. Effects of carcinogens on chicken atherosclerosis. *Cancer Res.* 37:2232-2235.
- Anitschkow A. 1913. Über Veränderungen der Kaninchen-Aorta bei Experimenteller Cholesterinsteatose. *Beitr. Z. Path. Anat. U. Z. Allg. Path.* 56:379-384
- Badimon J.J., Badimon L., Fuster V. 1990. Regression of atherosclerosis by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. *J. Clin. Invest.* 85:1234-1241.
- Bujo H., Yamamoto T., Hayashi K., Hermann M., Nimpf J., Schneider W.J. Mutant oocytic low density lipoprotein receptor gene family member causes atherosclerosis and female sterility. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92(21):9905-9909.
- Carda Aparici P., García Partida P. 1965. Efectos de dietas hipergrasas en gallinas ponedoras. Su corrección con flavonas. *Zootechnia* 14(4):1-15.
- Catapano A.L. 1997. Calcium antagonists and atherosclerosis. *Eur. Heart J.* 18A: 80-86.
- Chaikoff I., Lindsay S., Lorenz F.W., Entenman C. 1948. Production of atheromatosis in the aorta of the Bird by the administration of Diethylstilbesterol. *J. Exper. Med.* 88:373-375
- David W., Winsor M.D., Winsor T., Kenneth M. 1978. The natural course of

- arteriosclerosis in Animals and Man. *Angiology* 29:263-271.
- Dixit V.P., Joshi S.C. 1985. Antiatherosclerotic effects of alfalfa meal ingestion in chicks: a biochemical evaluation. *Indian. J. Physiol. Pharmacol.* 29(1):47-50.
- Elkin R.G., Yan Z., Buhman K.K., Story J.A., Turek J.J., Anderson M., Homan R., Newton R.S. Reduction of cholesterol content through inhibition of hepatic cholesterol biosynthesis and alteration of plasma VLDL composition in laying hens: comparative effects of atorvastatin, lovastatin, and simvastatin. *Atherosclerosis* 134:123-125.
- Fabricant C.G., Fabricant J. 1999. Atherosclerosis induced by infection with Marek's disease herpesvirus in chickens. *Am. Heart. J.* 138:S465-468.
- Fabricant C.G., Fabricant J., Litrean M.M., Minicck C.R. 1978. Virus-induced atherosclerosis. *J. Exp. Med.* 148:335-340.
- Fan J., Watanabe T. 2000. Cholesterol-fed and transgenic rabbit models for the study of atherosclerosis. *J. Atheroscler. Thromb.* 7(1):26-32.
- Fox H. 1933. *Arteriosclerosis*. Macmillan. New York. 250 pp.
- 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.
- Gaton E., Orgad U., Weisman Y., Wolman M. 1988. Phagocytic system stimulation in experimental atherosclerosis of chicks. *Exp. Mol. Pathol.* 49(3):291-296.
- Gupta P.P., Grewal G.S. 1980. Spontaneous atherosclerosis in chicken. *Indian. J. Med. Res.* 71:410-415.
- Hasegawa K., Nishimura H. 1991. Humoral factor mediated acetylcholine-induced endothelium-dependent relaxation of chicken aorta. *Gen. Comp. Endocrinol.* 84(1):164-169.
- Ho K.J., Lawrence W.D., Lewis L.A., Liu L.B., Taylor C.B. 1974. Hereditary hyperlipidemia in nonlaying chickens. *Arch. Pathol.* 98(3):161-172.
- Horlick L., Katz L.N. 1949. Retrogression of atherosclerotic lesions on cessation of cholesterol feeding in the chick. *J. Lab. Clin. Med.* 34:1427-1472.
- Ignatowsky A. 1908. Wirkung der tierischen Nahrung auf den Kaninchen-Organismus. *Ver. D. Mil. Mediz. Akad.* 16:174-180
- Katz L.N., Stamler J. 1953. *Experimental atherosclerosis*. C.C Thomas, Springfield, Illinois, p 127.
- Kostner K.M., Smith J.L., Dwivedy A.K., Shafey T.M., Fang N.X., Mahon C.I. 1997. Lecithin-cholesterol acyltransferase activity in normocholesterolaemic and hypercholesterolaemic roosters: modulation by lipid apheresis. *Eur. J. Clin. Invest.* 27:212-218.
- La Ville A.E., Seddon A.M., Shaikh M., Rowles P.M., Woof N., Lewis B. 1989. Primary prevention of atherosclerosis by lovastatin in a genetically hyperlipidemic rabbit strain. *Atherosclerosis* 78(2-3):205-210.
- Lucas A., Dai E., Liu L.Y., Nation P.N. 1998. Atherosclerosis in Marek's disease virus infected hypercholesterolemic roosters is reduced by HMGCoA reductase and ACE inhibitor therapy. *Cardiovasc. Res.* 38(1):237-246.
- Lucas A., Yue W., Jiang X.Y., Yan W., Bauer J., Shneider W., Chagpar A., Dai E., Perk M., Montague P., Garbutt M., Radosavjevic M. 1996. Development of Avian models for restenosis. *Atherosclerosis* 119(1):17-41.
- Okwusidi J.I., Wong H.Y., Cheng K.S., Loo G. 1991. Effects of diazepam, psychosocial stress and dietary cholesterol on pituitary-adreocortical hormone levels and experimental atherosclerosis. *Artery* 18(2):71-86.
- Orimilikwe S.O., Wong S.O., David S.N., Reinshagen J.A. 1983. Effect of exercise and guanetidine on plasma cholesterol and aortic atherosclerosis of atherogenic-fed cockerel. *Artery* 12(1):60-73.

- Orita S., Masegui T., Itou K., Kawada M., Yanai T., Ueda K. 1994. Spontaneous Aortic Arteriosclerosis in Layer Chickens. *J. Comp. Path.* 110:341-347
- Ortega J.V. 2002. Efecto de la Atorvastatina en pollos aterogénicos alimentados con dieta rica en huevo. Tesis doctoral. Universidad de Murcia.
- Patel D.J., Wong H.Y., Newman H.A., Nightingale T.E., Frasinell C., Johnson F.B., Patel S, Coleman B. 1982. Effects of valium (diazepam) on experimental atherosclerosis in roosters. *Artery* 10(4):237-249.
- Poernama F., Subramanian R., Mark E., Cook M.E., Attie A.D. 1992. High Density Lipoprotein Syndrome in chickens is not associated with an increased susceptibility to Atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb.* 12(5):601-607.
- Poernama F., Schereyer S.A., Bitgood J.J., Cook M.E., Attie A.D. 1990. Spontaneous high density lipoprotein deficiency syndrome associated with a Z-linked mutation in chicken. *L. Lipid. Res.* 31:955-963.
- Reinis Z., Lodja Z., Heyrovsky A., Hoorakova D., Reisenauer R. 1976. Effects of beta-blocking agents in experimental atherosclerosis of cocks. *Rev. Czech. Med.* 22(3):117-126.
- Siller W.G. 1961. The pathology of experimental atherosclerosis in egg-fed fowls. *J. Atheroscler. Res.* 1:189-204.
- Simpson C.F., Harms R.H. 1983. Aortic atherosclerosis in nonlaying hens with fatty liver syndrome. *Avian Dis.* 27(3):652-659.
- Smith T.L., Kummerow F.A. 1989. Effect of dietary vitamin E on plasma lipids and atherogenesis in restricted ovulator chickens. *Atherosclerosis* 75(2-3):105-109.
- St Clair R.W. 1998. The contribution of avian models to our understanding of atherosclerosis and their promise for the future. *Lab. Anim. Sci.* 48(6):565-568.
- Toda T., Leszczynski D., Kummerow F. 1981. Vasculotoxic effects of dietary testosterone, estradiol and cholesterol on chick artery. *J. Pathol.* 134 (3):219-231.
- Valdés Chavarri M., Pascual-Leone A., O'Connor C. 1976. Verification of the cholesterol hypothesis in atherogenesis with a model of dietary atheromatosis in chicken fed with eggs. Influence of insulin and oral antidiabetics. *Rev. Clin. Esp.* 143(5):427-435.
- Villamor E., Ruijtenbeek K., De Mey J.G., Blanco C.E. 2002. Vascular reactivity in intrapulmonary arteries of chicken embryos during transition to ex ovo life. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 282 (3):R917-927.
- Wong H.Y., 1975. The cockerel as an animal model for atherosclerosis research. *Avd. Exp. Med. Biol.* 63:381-391.
- Wong H.Y., Cheng K.S., Kruth H.S. 1987. Effects of meprobamate on lipids, lipoprotein, and experimental atherosclerosis. *J. Natl. Med. Assoc.* 79(8):855-864.
- Wong H.Y., Loo G., Sherief H.T., Zhuang H.Z. 1992. Effects of diazepam (valium) on aortic atherogenesis and plasma lecithin: cholesterol acyltransferase activity in cockerels fed an atherogenic diet. *Artery* 19(1):39-46.
- Yamaguchi K., Nishimura H. 1988. Angiotensin II-induced relaxation of fold aorta. *Am. J. Physiol.* 255(4):R591-599.