

## ORIGINALES

## Nuevo modelo experimental de Hiperplasia Intimal en la rata

## A new experimental model of Intimal Hyperplasia in the rat

M. Rodríguez Piñero - J. P. Linares Palomino - V. García Róspide - L. M. Salmerón Febres - J. Moreno Escobar  
 G. Urbano Valero\* - F. Fernández Quesada - J. J. Jiménez Ruano - J. Martínez Gámez - E. Ros Díe

**Departamento de Cirugía de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.**  
**Servicio de Angiología y Cirugía Vascular del Hospital Universitario de Granada.**  
 (Jefe del Servicio: Prof. Dr. E. Ros Díe)

## RESUMEN

**Objetivos:** El conocimiento de la Hiperplasia Intimal (H.I.) precisa de modelos experimentales donde estudiar el proceso y donde ensayar diversas terapéuticas destinadas al control de este fenómeno. Con la idea de abrir una nueva línea de investigación en el Servicio, nos planteamos como punto de partida el buscar un modelo experimental que permitiera, sin grandes medios técnicos, reproducir el daño intimal de forma fiable y constante, así como objetivar de forma clara la respuesta producida.

**Material y Métodos:** Utilizando ratas Wistar Albina machos de peso, entre 300 y 350 gr. logramos, modificando uno de los modelos descritos por CLOWES, provocar una lesión en el endotelio de la aorta. Se han distribuido en grupos de 5 animales, un grupo control y 4 grupos sacrificados a los 7, 14, 21 y 28 días de la lesión (grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente). Los cortes transversales de las muestras han sido estudiados al microscopio óptico y con analizador de imagen se han medido las áreas de la luz del vaso (ALV) y de la membrana basal (AMB).

**Resultados:** Encontramos cómo se produce engrosamiento intimal desde la segunda semana, siendo aún mayor a la tercera y cuarta semana. Se ha cuantificado mediante el cociente ALV/AMB, siendo éste de 1 en la arteria sana y

decreciendo conforme crece la neoíntima. Se comparan estadísticamente los cocientes medios de todos los grupos, siendo  $p < 0,01$ , así como la comparación entre los distintos grupos, siendo significativa al comparar el grupo control con los grupos 2, 3 y 4, así como al comparar el grupo 2 con los grupos 3 y 4.

**Conclusiones:** 1) Hemos conseguido un modelo, hasta ahora no descrito, de producción de H.I. en aorta abdominal de rata.  
 2) Con este procedimiento, la variable de la modificación del flujo inducido por la técnica no influye, por utilizar la carótida como vía de entrada del catéter.  
 3) Es un modelo fácil de conseguir, no precisando técnicas complejas ni de microcirugía.  
 4) La respuesta a la lesión es similar en todos los animales del mismo grupo.

**Palabras clave:** Hiperplasia intimal; modelos experimentales; rata Wistar Albina.

## SUMMARY

**Objectives:** The knowledge of intimal hyperplasia needs experimental models where to study and assay several treatments directed to the control of this process. To intend to open a new line of investigation in our Service, we initially think to search an experimental model to permit, without complex technology, to reproduce the intimal lesion of trustworthy and constant way, as well to objectify clearly the response.

**Materials and Methods:** In males Wistar Albina rats, between 300 to 350 grs., we have got to injure the endothelium of the aorta, we have modified one of the models reports by CLOWES. Rats were grouped in five groups of

\* Departamento de Fisiología Animal de la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada (España).

five animals, the first one was the control and others were killed at 7, 14, 21 and 28 days after injury (1, 2, 3 and 4 groups respectively). Then, the cross sections were studied to the optical microscope and photographed, with an image analyst we were measured the light of the vessel area (ALV) and the basal line area (AMB).

**Results:** We have obtained how the intimal hyperplasia was produced from the second week, increasing to the third and fourth weeks. This neointimal proliferation have been expressed as the ratio ALV/AMB, this is 1 in the normal artery and decrease at the same time to increase the neointimal. We have statistically compared the average ratios of all the groups ( $p < 0,01$ ), as well we compare the difference groups, statistical significant was obtained between control group and 2, 3 and 4 groups, as well to compare the 2 group with the 3 and 4 groups.

**Conclusions:** 1) We have obtained a model, no report before now, to produce intimal hyperplasia in abdominal aorta in rats.

2) With this model, the variable of the modification of flux induced for the technical does no influence, because we use the carotid artery as the way of entrance of the catheter.

3) This model is easy to get, because it do not needs complex technicals and microsurgery.

4) The response to the injury is similar in all the animals of the same groups.

**Key words:** Intimal hyperplasia; experimental models; Wistar Albina rats.

## Introducción

El engrosamiento intimal es un aspecto de la respuesta de cicatrización normal de las arterias a las agresiones del endotelio en los procedimientos de reconstrucción. Todas las formas de reconstrucción, ya sea por ataque directo a la lesión ocluyente (endarterectomía, angioplastia) o por puente (bypass venoso o protésico) causan daño y una respuesta de cicatrización que, aunque necesaria para la función a largo plazo, también puede ser la causa de engrosamiento luminal y fallo de la reconstrucción (1, 2).

Con el avance y desarrollo de la Cirugía Vascular, la mayoría de estas técnicas, previamente limitadas a la aorta y vasos grandes, se han extendido a los vasos pequeños, desarrollando frecuentemente estenosis y, en último término, trombosis espontánea, implicán-

dose a la hiperplasia intimal como causa (3). Esta se ha demostrado, particularmente, después de intervenciones tales como las endarterectomías carotídeas y periféricas, bypass venosos o protésicos femoropopliteos y coronarios, angioplastias de la arteria femoral superficial, las aterectomías y las angioplastias coronarias (4).

Son bien conocidos los distintos procedimientos quirúrgicos que originan hiperplasia intimal, éstos por sí mismos rompen la arquitectura vascular normal. Los **cambios fisiopatológicos que producen en la pared arterial** son los que conducen a la proliferación de las células musculares lisas y a la deposición de tejido conectivo en la íntima, con el consiguiente engrosamiento de la misma.

El simple paso de un *catéter-balón de embolectomía* inflado a lo largo del vaso denuda la superficie de su endotelio, distiende la pared y destruye algunas células musculares lisas (CML) en la media. Las plaquetas se acumulan en una delgada capa sobre la superficie denudada, siendo desplazadas más tarde para la regeneración endotelial y la proliferación intimal de las CML. Por último, la íntima se engrosa como consecuencia de la acumulación de CML y matriz extracelular (3, 5, 6, 7). En los vasos pequeños de humanos, este engrosamiento intimal producido por el catéter de embolectomía puede causar un estrechamiento difuso de la luz; en los vasos grandes, en cambio, este proceso no parece tener importancia clínica.

En la *angioplastia transluminal percutánea* (ATP), que se usa para dilatar segmentos estenóticos de arterias arteroscleróticas, se produce el mismo efecto produciendo una grieta en la placa, la media restante se distiende pero no se rompe y mantiene la integridad estructural del vaso. Se forman trombos en la porción rota de la placa y en unas semanas se remodela en forma de lesión fibrosa. Como puede esperarse, este procedimiento obtiene los mejores resultados cuando las estenosis son discretas y se localizan en vasos grandes con alto flujo sanguíneo (8). Aunque las reestenosis significativas son sólo un problema moderado en vasos grandes (p. ej. arterias ilíacas), constituyen una causa importante de reducción del flujo sanguíneo en vasos pequeños y de isquemia, como ocurre en las arterias coronarias y femoropopliteas. Las lesiones que causan reestenosis son extensamente fibrosas y contienen mayoritariamente CML (3, 9, 10, 11).

La *endarterectomía* es una forma igualmente trau-

mática de reconstrucción vascular que se asocia también con el desarrollo de lesión hiperplásica intimal que, en algunas ocasiones, es suficiente para estrechar la luz reconstruida y reducir el flujo sanguíneo. El desarrollo de estenosis recurrente se ha descrito con más detalle en pacientes sometidos a endarterectomía carotídea (12, 13, 14). Estas lesiones exhiben al menos 2 tipos de morfología: Si se exploran dentro de los primeros 2 años después de la cirugía, son lisas, blancas, firmes y fibrosas y contienen mayoritariamente CML y matriz extracelular. En estadios más tardíos, las lesiones a menudo tienen una capa de trombos friable y gomosa en la superficie luminal, con algunas zonas subyacentes de acúmulos de lípidos, calcio y hemorragia, así como focos de músculo liso. Estos resultados sugieren que la reparación en vasos severamente traumatizados es efectuada por la proliferación de CML derivada, quizás, desde remanentes de la media o del vaso adyacente no dañado. La nueva lesión intimal se extiende, adicionalmente, por síntesis y deposición de matriz extracelular y músculo liso, incluyendo elastina, colágeno y proteoglicanos (3).

Hasta ahora, los ejemplos de hiperplasia intimal complicando los procedimientos de restauración y reconstrucción aparecen asociados con denudación endotelial extensa y destrucción de, al menos, una parte de la pared arterial. En la *cicatrización de los injertos vasculares* la relación entre daño e hiperplasia intimal no es tan obvia. Si bien es cierto que la distensión vigorosa de un **injerto venoso**, ya sea por espasmo o por el paso de un valvulotomo, puede dañar el endotelio y la pared del injerto, al ser estos defectos relativamente pequeños, el endotelio debería regenerarse en pocos días (15). Sin embargo, tales injertos pueden desarrollar engrosamiento intimal en un período de meses. Estas lesiones pueden ser difusas o limitadas y se han asociado con la cicatrización en los sitios de las válvulas venosas o traumas (16). También se han descrito en los injertos venosos «*in situ*» menos traumatizados. Las lesiones en estos injertos son fibrosas y lisas y remedian, morfológicamente, las lesiones tempranas de las reestenosis carotídeas. En períodos tardíos algunos injertos venosos desarrollan franca aterosclerosis. No se conoce porqué estos injertos se deterioran regularmente con el tiempo. Es posible que los procesos de cicatrización, asociados con la adaptación del injerto venoso a la circulación arterial, los haga más susceptibles a los estímulos aterogénicos exógenos (3, 17).

En los *injertos sintéticos*, el engrosamiento intimal significativo se desarrolla en las anastomosis o justo por debajo, en los vasos distales (18, 19). Son lesiones similares a las encontradas tempranamente en los injertos venosos y aparecen por lo usual dentro de los primeros 2 años después de la cirugía. En los humanos, el recubrimiento de la superficie interna del injerto sintético por endotelio y tejido conectivo subendotelial se limita a los primeros centímetros de cada extremo. Parecería, así, que la arteria adyacente sirve como la única fuente de cobertura celular y que estas células tienen sólo una capacidad limitada para migrar a lo largo del injerto. En contraste, las lesiones en los injertos venosos parecen ser el resultado de la proliferación de células ya residentes en el injerto (3, 20) (Fig. 1).

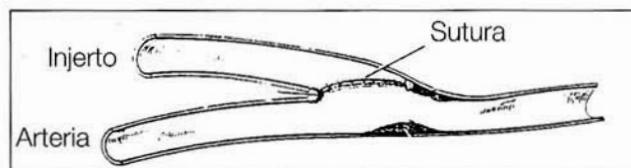


Fig. 1. Ilustración de una anastomosis terminal-lateral que muestra los sitios de localización del engrosamiento intimal.

No conocemos el papel que juega la magnitud del daño en la cicatrización de injertos vasculares y el desarrollo de hiperplasia intimal excesiva. En parte, esto es así porque es muy difícil documentar en humanos la extensión de la denudación endotelial, la dirupción de la pared y la secuencia de hechos reparadores. Además, ahora conocemos, desde estudios en animales, que debe haber un amplio rango de causas que producen lesión; algunas causan alteración de la arquitectura vascular y otras causan una util pérdida de endotelio, la cual se repara antes que la denudación llegue a ser aparente (3).

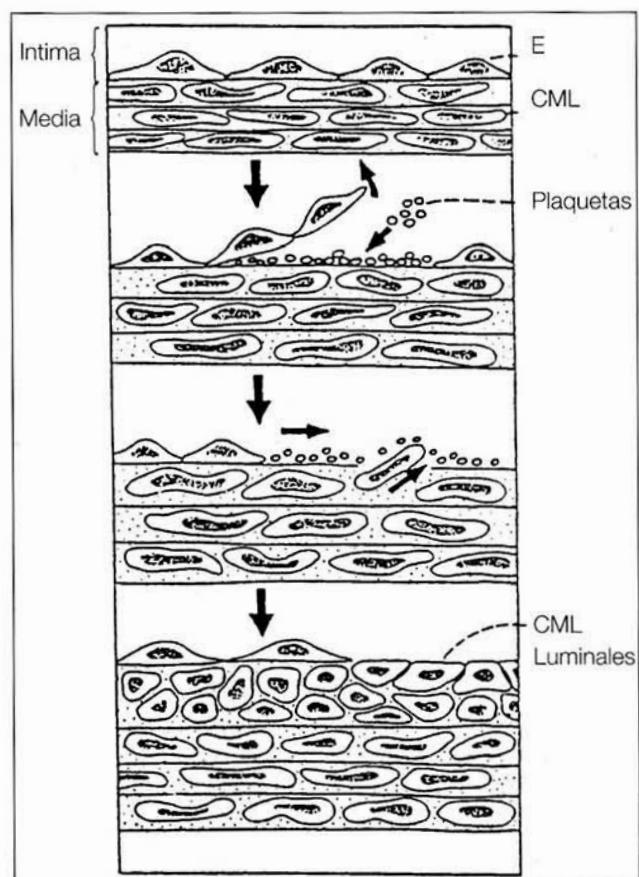
Las arterias grandes sanas constan, en la media, de capas de CML alternando con capas de elastina y colágeno; y cubiertas en la superficie luminal por una monocapa continua de endotelio. En los animales adultos, el endotelio y las CML están en un estado de quiescencia y el recambio o «turnover» de estas células es escasamente detectable (en ratas, aproximadamente 0,06 %/día) (5). Una vez la superficie ha sido denudada de endotelio, una secuencia estereotipada de hechos suceden y conducen al engrosamiento intimal.

Las regiones denudadas son inmediatamente cubiertas, en los primeros minutos, por un tapiz de plaquetas. Este incremento de actividad da lugar a la extensión por todo el subendotelio, al que llegan a recubrir en unos 30 minutos, alcanzando un máximo dentro de las primeras 24 horas. Además de la deposición plaquetaria, células inflamatorias, principalmente macrófagos, se encuentran en la alfombra subendotelial, alcanzando el máximo entre las primeras 48-72 horas, decreciendo posteriormente durante la primera semana.

Al mismo tiempo, las CML de la media empiezan a proliferar y migrar dentro de la íntima, se comprueba un incremento de la actividad mitótica y la migración de las células musculares lisas desde la media hasta la íntima, que comienza, aproximadamente, dentro de las 24 horas y decrece entre la 1<sup>a</sup> y 3<sup>a</sup> semana desde el momento de la lesión inicial. Cuando esta proliferación disminuye o se estabiliza, se produce un incremento de la síntesis y secreción de grandes cantidades de matriz extracelular. Este proceso llega a un estado de estabilización en aproximadamente el 80 % del volumen final (2, 4) (Fig. 2).

Estas consideraciones sostienen el concepto de que el *proceso de engrosamiento intimal daño-inducido* involucra temprana trombosis sobre la pared denudada, seguida por proliferación de CML y, finalmente, deposición de matriz extracelular por éstas. Por consiguiente, la proliferación de CML juega un papel central en el desarrollo de lesión intimal, mientras que el endotelio, en este modelo de engrosamiento intimal, parece modular la proliferación de músculo liso, la acumulación de lípido y, para algunos, una actividad vasomotora en la arteria. La hipótesis «reacción al daño», como originalmente se denominó, sugiere que el daño inicial y el engrosamiento intimal final deben estar ligados con los tempranos hechos trombóticos y la liberación de factores de crecimiento de músculo liso, desde las plaquetas adheridas a la arteria dañada (21).

Aunque esta hipótesis estaba sostenida por estudios en animales, posteriormente otras investigaciones, usando inhibidores farmacológicos de la agregación plaquetaria, no han proporcionado soportes convincentes del papel de las plaquetas en el proceso de engrosamiento intimal, excepto en circunstancias asociadas con acumulación masiva de trombos (22, 23, 24, 25, 26). Asimismo, tampoco está sustentada



**Fig. 2.** Representación esquemática de la reacción arterial al daño. En el panel superior se muestra una arteria elástica normal con el endotelio (E) y las células musculares lisas (CML) de la media. Cuando la capa endotelial se destruye las plaquetas se acumulan en la región denudada (2.º panel). La capa de superficie se regenera por un frente de avance endotelial y las CML proliferan en la media y migran en la íntima (3.º panel). Las CML continúan proliferando y originan engrosamiento intimal. Estas forman también una superficie luminal (CML luminales) donde está ausente el endotelio (panel inferior).

esta hipótesis por estudios en los cuales el daño endotelial era limitado y no siempre asociado con denudación; en ellos, en algunos casos no se observó proliferación muscular lisa o engrosamiento intimal, mientras que en otros la íntima se encontró masivamente engrosada, a pesar de existir una capa endotelial (lesión endotelial crónica no denudante en la cicatrización de injertos vasculares) (27, 28, 29, 30).

Por consiguiente, los factores responsables para la estimulación del crecimiento de CML pueden venir de células de la pared vascular o plaquetas no adheridas a la superficie endotelial. Se puede llegar así a la

conclusión, como refiere CLOWES, de que se requiere algo más que los factores plaquetarios para el crecimiento muscular liso y, como se ha dicho, las células de la pared vascular por sí mismas o posiblemente pequeñas poblaciones de macrófagos residentes podrían ser las fuentes lógicas (3). Actualmente, se conoce que células endoteliales, CML y macrófagos en cultivo, pueden sintetizar y secretar varios factores de crecimiento definidos, uno de los cuales remeda al PDGF. Si ellas lo hacen también «*in vivo*», no se conoce todavía. En cualquier caso, es evidente que el control del engrosamiento luminal debe basarse en un entendimiento de la biología del crecimiento de la célula muscular lisa (31, 32, 33).

Podemos concluir, en resumen, que la reparación, incluso en el más simple modelo de daño vascular, es un proceso extremadamente complejo y, por consiguiente, los estudios en tales modelos simples deben continuar para proporcionar datos que lleven a comprender el crecimiento y desarrollo vascular, así como a diseñar estrategias farmacológicas para el control del engrosamiento intimal después de una reconstrucción arterial.

Por todo lo anterior y revisando la literatura, **nos propusimos como objetivo** crear un modelo experimental propio que nos permitiera producir un daño en el endotelio arterial y objetivar la respuesta hiperplásica consiguiente, todo ello sin las dificultades añadidas que nos encontramos en la literatura, en cuanto a técnicas especiales y microcirugía, con una fiabilidad y constancia en los resultados que permitiera utilizarlo como base de posteriores estudios.

## Material y Métodos

Tras consultar diversos modelos que hay publicados (9, 25, 34, 35, 36), nos inclinamos, finalmente, por utilizar como animal de experimentación a la rata de raza Wistar albina macho, con pesos entre 300 y 330 grs., con un ritmo de crecimiento homogéneo. Estos animales nos son suministrados por el animalario de la Universidad de Granada, siendo criados y cuidados por ellos.

Hemos utilizado y sacrificado diversos animales hasta poner a punto la técnica, con la disección de la carótida izquierda y el paso de un catéter-balón de Fogarty hasta la aorta abdominal. En este grupo ini-

cial, que fue anestesiado con 3 ml. de Uretano al 2 % intraperitoneal (tóxico para el animal), se determinó que la distancia para el emplazamiento del balón en la aorta infrarrenal era de 15 cm medidos desde la arcada dentaria inferior, así como que 10 cm desde la arteriotomía correspondían a una posición suprarrenal del balón, por lo que decidimos introducir el balón todo lo que nos lo permitiera (generalmente entre 15-17 cm desde la arteriotomía) y arrastrarlo hasta los 10 cm (longitud del arrastre entre 5-7 cm).

En este procedimiento preliminar también se utilizaron distintas cantidades de suero fisiológico para inflar el balón. Tras múltiples ensayos determinamos que la cantidad óptima era aproximadamente de 0,3 ml, pero pudimos observar cómo el parámetro más fiable de un correcto inflado era la presión. Con un manómetro de presión, de los utilizados para angioplastia, determinamos que la presión de un correcto inflado del balón era de 1,6 a 2 atmósferas, siendo la cantidad de líquido variable entre 0,25 a 0,45 ml de salino, dependiendo esa variación de que notemos una resistencia adecuada en el arrastre del balón y de lo que hayamos utilizado cada balón.

Una vez hechas todas las experiencias piloto anteriormente descritas, iniciamos el desarrollo del modelo de lesión en sí. En esta ocasión, se procedió a anestesiar a los animales con una mezcla producida por el Departamento de Fisiología de la Universidad de Granada, la cual tiene la propiedad de no modificar la tensión arterial, basada fundamentalmente en pentobarbital sódico (20 mg/kg de peso) por vía intraperitoneal. Practicada una incisión de unos 3 cm en la zona lateral izquierda del cuello, se diseña la arteria carótida común izquierda. Exponemos un tramo del vaso de unos 2 cm, procediendo a ligarla en su parte distal, la parte proximal se clampa mediante un pequeño clip. Posteriormente, se procede a realizar una arteriotomía con una tijera fina y se introduce un catéter-balón de Fogarty 2F (Baxter Healthcare Corporation). Emplazado el catéter a nivel de aorta infrarrenal, según la técnica anteriormente descrita, se infla a una presión de 1,6 a 2 atmósferas y se arrastra unos 5 a 7 cm. Este procedimiento se repite 3 veces. Retirado el catéter, se procede a ligar la arteria carótida común izquierda en su porción proximal (no se observó, en ningún caso, comportamiento extraño del animal que hiciera sospechar alguna repercusión cerebral). Después

se cierra la piel mediante puntos sueltos de seda (Fig. 3).

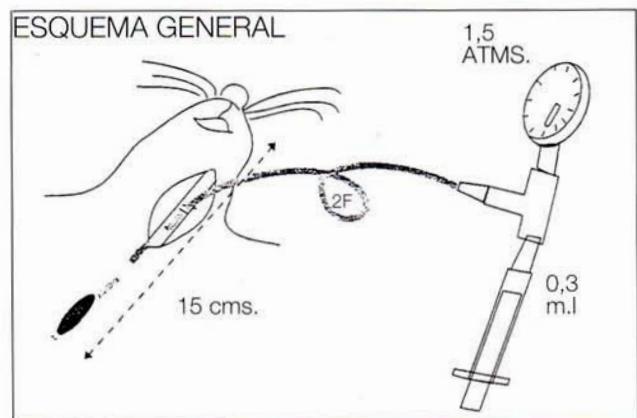


Fig. 3. Esquema que representa el modelo descrito en el texto.

Los animales han sido mantenidos en jaulas de experimentación, alimentados con pienso standard para ratas y sometidas a un ritmo circadiano de 12 horas de luz/oscuridad.

Se hicieron 4 grupos aleatorios, que se sacrificaron a los 7, 14, 21 y 28 días de la experiencia (grupos 1, 2, 3 y 4, respectivamente), además de un grupo control, grupo 0, donde no se realizó la experiencia. Se extrajeron de cada animal segmentos de unos 2 cm de la aorta infrarrenal (de la zona lesionada) y otro segmento de la aorta torácica descendente, disecando la arteria de forma cuidadosa y cortándola con un bisturí. Todas las muestras, tras lavarlas en suero fisiológico sin manipulaciones excesivas, se fijaron con formaldehido tamponado al 10 % y se enviaron para su procesamiento por un técnico de laboratorio. Se procedió a realizar cortes transversales y a teñirlas con Hematoxilina-Eosina y Orceína, realizando el estudio con microscopía óptica. Seleccionamos los mejores cortes de cada animal y procedimos a la fotografía de los mismos.

Una vez fotografiados, se procede al tratamiento digital de cada fotografía mediante un analizador de imágenes dentro de un programa informático en el Laboratorio de Análisis de Imágenes del Centro de Instrumentación Científica de la Universidad de Granada. Realizamos la medición del área de la luz de cada muestra y del área interna a la membrana basal (el área dentro de la membrana basal incluye el

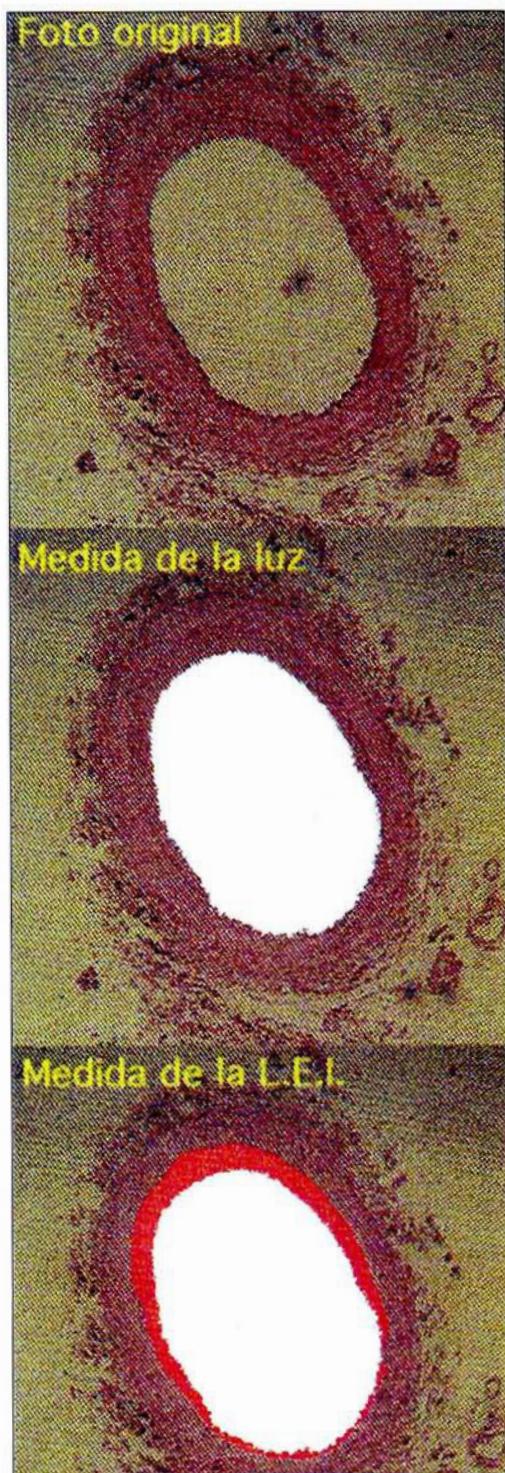


Fig. 4. En el panel superior se aprecia el engrosamiento intimal, distancia entre la luz y la membrana basal. En el panel central, en blanco, medición del área de la luz del vaso (numerador del cociente). En el panel inferior, en rojo, el área de crecimiento. La suma del área blanca y la roja constituye el área por dentro de la membrana basal (denominador del cociente).

área de la luz), efectuando el cociente entre ambos valores. De tal forma que un cociente de 1 representará un vaso normal (37) (Fig. 4).

Estos valores del cociente luz/membrana basal fueron analizados estadísticamente mediante el análisis de la varianza de los promedios (ANOVA) y las comparaciones entre cada grupo por el test de la  $t$  de Student.

## Resultados

Como se ha mencionado, hemos realizado comparaciones de cada uno de los grupos con el de control, el cual coincide con la aorta sana de cada animal (por lo que no necesitamos analizar la muestra de aorta torácica sana extraída en todos los animales) y los distintos grupos entre sí (Tabla I).

En la primera semana, **grupo 1**, apreciamos alteraciones morfológicas de la pared arterial (desestructuración de la capa media arterial, con aumento del número de células, reflejadas en un mayor n.º de núcleos, destrucción, duplicación y falta de paralelismo de las unidades lamelares), pero encontrando la íntima sin crecimiento evidente, aunque con un ribete de hiperplasia no medible. Con lo cual el cociente es 1 y, por tanto, no requiere comparación.

En la segunda semana, **grupo 2**, todas las lesiones morfológicas mencionadas se aprecian en mayor magnitud, apreciándose ya proliferación intimal significativa, obteniéndose un valor promedio del grupo de 0,8771.

En la tercera semana, grupo 3, además de todas las lesiones morfológicas mencionadas, observamos un engrosamiento mayor de la íntima, obteniéndose un cociente promedio de 0,7289.

Valores Cociente Luz/MB						
	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	Promedio
Ratas normales	1	1	1	1	1	1
Grupo 1	1	1	1	1	1	1
Grupo 2	0,9001	0,8573	0,9077	0,8727	0,8475	0,8771
Grupo 3	0,7512	0,8261	0,7482	0,6931	0,6259	0,7289
Grupo 4	0,6820	0,7671	0,7486	0,7195	0,7634	0,7361

Tabla I

## Estadística

\* Análisis de la varianza: →  $p < 0,01$  Significativo  
(Compara las medias de los 5 grupos)

* Grupo 0 contra:	→	Grupo 2: p <0,01	Significativo
		Grupo 3: p <0,01	Significativo
		Grupo 4: p <0,01	Significativo
* Grupo 2 contra:	→	Grupo 3: p <0,01	Significativo
		Grupo 4: p <0,01	Significativo

H. Universitario de Granada

Tabla II

Por último, en la cuarta semana, **grupo 4**, el ritmo de crecimiento se frena, obteniéndose un cociente promedio muy similar al del grupo 3 (de 0.7361).

El estudio estadístico (Tabla II) refleja un análisis de las medias de los 5 grupos muy significativo e, igualmente, dan resultados significativos ( $p < 0,01$ ) las comparaciones del grupo control con cada uno de los grupos y del grupo 2 con los grupos 3 y 4. Sin embargo, como era de esperar, la comparación del grupo 3 con el 4 no es significativo. En todos los casos se ha aplicado la máxima penalización para comparaciones múltiples (Método de BONFERRONI).

## Discusión

Para el conocimiento de la H.I. se precisan modelos experimentales que permitan avanzar y aclarar las distintas teorías etiopatogénicas y poder ensayar las posibles terapéuticas que controlen y modulen este fenómeno. Como mencionamos, este modelo experimental pretendemos que sea el punto de partida nuestro para posteriores experiencias, pues buscábamos un modelo donde reproducir, en nuestro medio, el daño intimal de for-

ma fiable y constante, así como objetivar claramente la respuesta.

Una cuestión importante resultó ser qué mecanismo de lesión utilizaríamos. El primer modelo que hay descrito en la literatura data de 1975, es el ya clásico modelo de FISHMAN de daño endotelial mediante aire (34). Nosotros hemos optado por modificar uno de los procedimientos de CLOWES (6), que básicamente consiste en el arrastre de un catéter-balón de Fogarty en la aorta.

Todos los modelos experimentales sobre hiperplasia intimal que hemos encontrado descritos en la literatura tenían por objeto estudiar aspectos concretos sobre los múltiples factores implicados en este fenómeno (índice de replicación celular, elementos celulares implicados en el proceso, factores mitógenos y/o quimiotácticos, métodos y/o fármacos que controlen el proceso, ...). Ningún modelo encontramos dedicado a medir exclusivamente el crecimiento de la pared arterial tras el daño con catéter-balón, estudiando el momento en que se encuentra un engrosamiento medible y aquél en que el ritmo de crecimiento se detiene, encontrándose una máxima hiperplasia intimal, datos que consideramos fundamentales para las futuras experiencias.

En lo referente a las cuestiones estudiadas por nosotros, nuestros resultados coinciden, de forma general, con el de la mayoría de los autores (sobre todo con los modelos parecidos de CLOWES a nivel de la A. Carótida de ratas), de forma que a las 2 semanas de la lesión tenemos ya una respuesta hiperplásica medible y cuantificable, la cual sigue progresando de forma evidente hasta las 3 semanas en que se estabiliza, obteniéndose el mayor crecimiento de la íntima del vaso, siendo los resultados a la 4.<sup>a</sup> semana muy similares, por lo que podemos decir que el ritmo de crecimiento de la pared se ha frenado.

Por otra parte, consideramos que en este modelo no precisamos realizar mediciones del flujo, pues al introducir el catéter y ligar la A. Carótida no producimos variaciones en este parámetro en el lugar de la lesión, como podría ocurrir al entrar por vía femoral o ilíaca, pues la ligadura final de estas arterias podrían alterar la hemodinámica del flujo en la zona lesionada. Asimismo, los resultados son muy similares en todos los animales de cada grupo, por lo que consideramos que éste es un procedimiento fiable y cons-

tante para conseguir un modelo experimental sobre producción de hiperplasia intimal, siendo los estudios de comprobación aptos para cuantificar la lesión.

De esta forma, una vez comprobada su validez desde el punto de vista anatómo-patológico, este modelo experimental forma parte, como mencionamos, de un programa de investigación más amplio, en el que se pretende investigar las modificaciones que distintos factores de riesgo cardiovasculares (Hipertensión, Diabetes e Hipertensión) ejercen sobre el desarrollo de H.I., así como realizar ensayos terapéuticos que contribuyan al control de dicho proceso e incluso a su regresión. Los problemas técnicos que han surgido a lo largo de la puesta en marcha de este proyecto nos han llevado a cuestionar algunas experiencias publicadas acerca de este tema.

## BIBLIOGRAFIA

1. CHERVU, A.; MOORE, W. S.: An overview of intimal hyperplasia. *Surg. Gyn. Obst.* 1990; 171:433-447.
2. CLOWES, A. W.; REIDY, M. A.: Prevention of stenosis after vascular reconstruction. Pharmacologic control of intimal hyperplasia. A review. *J. Vasc. Surg.*, 1991; 13:885-91.
3. CLOWES, A. W.: Pathologic intimal hyperplasia as a response to vascular injury and reconstruction. En: RUTHERFORD, R. B., ed. *Vascular surgery*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1989; 266-75.
4. SICARD, G. A.; CHOT, E. T.; BAUMAN, D. S.: Hiperplasia de la íntima: Presente y futuro. En: CAPDEVILA, J. M.: *Debates sobre Cirugía Vascular*. Barcelona: Tecnograf S.A. 1993; 173-183.
5. CLOWES, A. W.; REIDY, M. A.; CLOWES, M. M.: Kinetics of cellular proliferation after arterial injury. I. Smooth muscle growth in the absence of endothelium. *Lab. Invest.*, 1983; 49:327.
6. CLOWES, A. W.; REIDY, M. A.; CLOWES, M. M.: Mechanisms of stenosis after arterial injury. *Lab. Invest.*, 1983; 49:208.

7. CHIDI, C. C.; DE PALMA, R. G.: Atherogenic potential of the embolectomy catheter. *Surgery*, 1978; 83:579.
8. GALLINO, A.; MAHLER, F.; PROBST, P., et al.: Percutaneous transluminal angioplasty of the arteries of the lower limbs: A 5 year follow-up. *Circulation*, 1984; 70:619.
9. STEELE, P. M.; CHESEBRO, J. H.; STANSON, A. W., et al.: Balloon angioplasty. Natural history of the pathophysiological response to injury in a pig model. *Circ. Res.*, 1985; 57:105.
10. ZARINS, C. K.; LU, C. T.; GEWERTZ, B. L., et al.: Arterial disruption and remodeling following balloon dilatation. *Surgery*, 1982; 92:1086.
11. SPENCE, K.; FREIMAN, D. B.; GATENBY, R., et al.: Long-term results of transluminal angioplasty of the iliac and femoral arteries. *Arch. Surg.*, 1981; 116:1377.
12. CALLOW, A. D.: Recurrent stenosis after carotid endarterectomy. *Arch. Surg.*, 1982; 117:1082.
13. CLAGETT, G. P.; ROBINOWITZ, M.; YOUKEY, J. R., et al.: Morphogenesis and clinicopathologic characteristics of recurrent carotid disease. *J. Vasc. Surg.*, 1986; 3:10.
14. NICHOLLS, S. C.; PHILLIPS, D. J.; BERGELIN, R. O., et al.: Carotid endarterectomy. Relationship of outcome to early restenosis. *J. Vasc. Surg.*, 1985; 2:375.
15. CAMBRIA, R. P.; MEGERMAN, J.; ABBOTT, W. M.: Endothelial preservation in reversed and in situ autogenous vein grafts. *Ann. Surg.*, 1985; 202:50.
16. CAMPEAU, L.; ENJALBERT, M.; LESPERANCE, J., et al.: The relation of risk factors to the development of atherosclerosis in saphenous vein bypass grafts and the progression of disease in the native circulation. A study 10 years after aortocoronary bypass surgery. *N. Engl. J. Med.*, 1984; 311:1329.
17. SCHWARTZ, L.; O'DONOHOE, M.; PURUT, C., et al.: Myointimal thickening in experimental vein grafts is dependent on wall tension. *J. Vasc. Surg.*, 1982; 15:176-86.
18. ECHAVE, V.; KOORNICK, A. R.; HAIMOV, M., et al.: Intimal hyperplasia as a complication of the use of the polytetrafluoroethylene graft for femoral-popliteal bypass. *Surgery*, 1979; 86:791.
19. SELMAN, S. H.; RHODES, R. S.; ANDERSON, J. M., et al.: Atheromatous changes in expanded polytetrafluoroethylene grafts. *Surgery*, 1980; 87:630.
20. BASSIOUNY, H.; WHITE, S.; GLAGOV, S., et al.: Anastomotic intimal hyperplasia: Mechanical injury of flow induced. *J. Vasc. Surg.*, 1992; 15:708-717.
21. ROSS, R.: The pathogenesis of atherosclerosis—an update. *N. Engl. J. Med.*, 1986; 314:488.
22. BOMBERGER, R. A.; DE PALMA, R. G.; AMBROSE, T. A., et al.: Aspirin and dipyridamole inhibit endothelial healing. *Arch. Surg.*, 1982; 117:1459.
23. CLOWES, A. W.: The Role of aspirin in enhancing arterial graft patency. *J. Vasc. Surg.*, 1986; 3:861.
24. FAXON, D. P.; SANBORN, T. A.; HAUDENSCHILD, C. C., et al.: Effect of antiplatelet therapy on restenosis after experimental angioplasty. *Am. J. Cardiol.*, 1984; 53:72C.
25. GROVES, H. M.; KINLOUGH-RATHBONE, R. L.; MUSTARD, J. F.: Development of nonthrombogenicity of injured rabbit aortas despite inhibition of platelet adherence. *Arteriosclerosis*, 1986; 6:189.
26. RADIC, Z. S.; O'MALLEY, M. K.; MIKAT, E. M., et al.: The role of aspirin and dipyridamole on vascular DNA synthesis and intimal hyperplasia following deendothelialization. *J. Surg. Res.*, 1986; 41:84.
27. REIDY, M. A.: A reassessment of endothelial injury and arterial lesion formation. *Lab. Invest.*, 1985; 53:513.
28. CLOWES, A. W.; GOWN, A. M.; HANSON, S. R., et al.: Mechanisms of arterial graft failure. 1. Role of cellular proliferation in early healing of PTFE prostheses. *Am. J. Pathol.*, 1985; 118:43.
29. CLOWES, A. W.; KIRKMAN, T. R.; REIDY, M. A.: Mechanisms of arterial graft healing. Rapid transmural capillary ingrowth provides a source of intimal endothelium and smooth muscle in porous PTFE prostheses. *Am. J. Pathol.*, 1986; 123:220.
30. REIDY, M. A.; CHAO, S. S.; KIRKMAN, T. R., et al.: Endothelial regeneration. VI. Chronic nondenunding injury in baboon vascular grafts. *Am. J. Pathol.*, 1986; 123:432.
31. SEIFERT, R. A.; SCHWARTZ, S. M.; BOWEN-POPE, D. F.: Developmentally regulated production of platelet-derived growth factor-like molecules. *Nature*, 1984; 311-669.
32. SHIMOKADO, K.; RAINES, E. W.; MADTES, D. K., et al.: A significant part of macrophage-derived growth factor consists of at least two forms of PDGF. *Cell.*, 1985; 43:277.

33. WALKER, L. N.; BOWEN-POPE, D. F.; ROSS, R., et al.: Production of platelet-derived growth factor-like molecules by cultured arterial smooth muscle cells accompanied proliferation after arterial injury. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1986; 83:7311.
34. FISHMAN, J. A.; RYAN, G. B.; KARNOVSKY, M. J.: Endothelial regeneration in the rat carotid artery and significance of endothelial denudation in the pathogenesis of myointimal thickening. *Lab. Invest.*, 1975; 32:339-51.
35. CLOWES, A. W.; CLOWES, M. M.: Regulation of smooth muscle proliferation by heparin in vitro and in vivo. *Inter. Angiol.*, 1987; 6:45-51.
36. CRECEK, B.; FISHBEIN, M.; FORRESTER, J., et al.: Inducción de insulin-like growth factor I messenger RNA in rat aorta after balloon denudation. *Cir. Res.*, 1990; 66:1753-60.
37. QUIÑONES-BALDRICH, W.; ZIOMED, S.; HENDERSON, T., et al.: Permeabilidad e hiperplasia de la íntima: efectos de la aspirina en las anastomosis de arterias pequeñas. *Annales de Cirugía Vascular*, 1988; 1:50-6.