

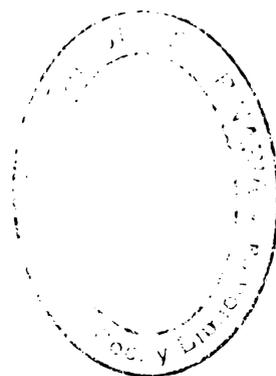
UNIVERSIDAD DE LA REPÚBLICA

FACULTAD DE VETERINARIA

**HISTOLOGÍA CUANTITATIVA CARDÍACA Y LESIONES VASCULARES
CORONARIAS EN PERROS DOMÉSTICOS DE MONTEVIDEO**

por

Pablo Ignacio GRIMÓN FAVARO
Oscar Alexander PEREIRA LARREA
José Antonio PINTOS HERRERA



Tesis de Grado presentada como uno
de los requisitos para obtener el título
de Doctor en Ciencias Veterinarias
Orientación: Medicina Veterinaria

MODALIDAD:

ENSAYO EXPERIMENTAL

**MONTEVIDEO
URUGUAY
2010**

TESIS DE GRADO aprobada por:

Presidente de mesa:



Dr. Carlos Romero

Segundo miembro (Tutor):



Dr. Alejandro Bielli

Tercer miembro:

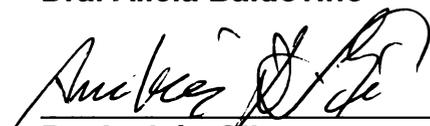


Dr. Danilo Fila

Cotutor:

Dra. Alicia Baldovino

Cotutor:



Dr. Andrés Gil

Fecha: 23 diciembre 2010

Autores:



Pablo Grimón Favaro



Oscar A. Pereira Larrea



José Antonio Pintos Herrera

FACULTAD DE VETERINARIA

Aprobado con 12 (doce) 

AGRADECIMIENTOS

- A nuestros tutores **Dr. Alejandro Bielli, Dra. Alicia Baldovino y Dr. Andrés Gil**, por ayudarnos en la culminación de esta carrera y por guiarnos durante la realización de este proyecto.
- A la **Dra. Helena Katz**, por su ayuda y colaboración durante el trabajo de campo y el procesamiento histológico de muestras.
- Al **Br. William Pérez**, por guiarnos en la toma de muestras.
- A las **Áreas de Histología y Embriología** y de **Anatomía Normal** de nuestra Facultad de Veterinaria, por permitirnos disponer de sus instalaciones para la realización de este trabajo.
- A todos los veterinarios y propietarios de perros donantes que colaboraron en el aporte y datos de los animales muestreados.

AGRADECIMIENTOS PERSONALES

- **Alexander Pereira:** agradezco a mis padres, por estar siempre a mi lado, apoyarme, estimularme, exigirme, y sobretodo por guiarme y enseñarme a buscar la felicidad; a mis compañeros de trabajo, de quienes aprendí mucho sobre nuestra profesión; a José Pintos, por su calidez humana y gran sacrificio, sin el cual este trabajo no hubiera sido posible; a Emiliano Tellechea y su familia, quienes siempre me trataron como un integrante más y me hicieron sentir como en casa; a Solana Gonzalez, por brindarme su solidaridad, apoyo y amistad, siendo una persona invaluable para mi; a Pablo Grimón por tratarme como un hermano, aceptar mis defectos, y por compartir momentos dentro y fuera de esta carrera que siempre estarán en mi memoria; a Virginia Estevez, por compartir su vida conmigo y hacer cada día especial; a mis perros, incondicionales que siempre me regalan un motivo para sonreír.
- **José Pintos:** agradezco a toda mi familia que me apoyó y estimuló a seguir. Agradezco muy especialmente a mi esposa Rosalía y mi hija Federica, quienes me brindaron todo su amor durante este largo periplo.
- **Pablo Grimón:** agradezco muy especialmente a Claudia Izarrualde, quien siempre está a mi lado y me ha dado todo su apoyo y soporte para terminar esta carrera. Agradezco también a mis padres y hermanos, quienes me han guiado y brindado su apoyo incondicional en todo momento de mi vida. Por último, agradezco a mis compañeros José y Alexander, con los cuales he compartido muchas horas de trabajo y amistad en la realización de este proyecto.

TABLA DE CONTENIDO

PÁGINA DE APROBACIÓN	II
AGRADECIMIENTOS	III
LISTA DE FIGURAS Y CUADROS	VIII
1. RESUMEN	1
1. SUMMARY	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	4
4.1 Corazón del perro y su irrigación	4
4.1.1 Generalidades del corazón del perro	4
4.1.2 Anatomía general del corazón del perro	4
4.1.3 Irrigación del corazón del perro	6
4.2 Estructura normal de las arterias del perro	7
4.2.1 Estudio de las capas que componen la pared arterial	9
4.2.2 Capa íntima	9
4.2.2.1 Endotelio	9
4.2.2.2 Alteraciones funcionales y activación del endotelio	10
4.2.2.3 Engrosamiento de la íntima: una respuesta a las lesiones vasculares	11
4.2.3 Capa media	11
4.2.3.1 Células musculares lisas de los vasos	12
4.2.4 Capa adventicia	13
4.2.4.1 Respuesta de la adventicia en la lesión vascular	13
4.3 Lesiones vasculares	14
4.4 Aterosclerosis	14
4.4.1 Importancia clínica	15
4.4.2 Morfología	15
4.4.3 Clasificación de las lesiones ateroscleróticas	18
4.4.3.1 Lesión tipo I: inicial	18
4.4.3.2 Lesión tipo II: estría grasa	19
4.4.3.3 Lesión tipo III: intermedia	20
4.4.3.4 Lesión tipo IV: ateroma	21
4.4.3.5 Lesión tipo V: fibroateroma	23
4.4.3.6 Lesión tipo VI: complicada	25
4.4.4 Factores de riesgo de la aterosclerosis en humanos	26
4.4.5 Factores predisponentes de lesiones vasculares en perros	27
4.4.5.1 Edad	27
4.4.5.2 Sexo	28
4.4.5.3 Genética	29
4.4.5.4 Hiperlipidemia	30
4.4.5.5 Obesidad	31
4.4.5.6 Actividad física	31
4.4.5.7 Convivencia con fumadores: el perro como fumador pasivo	32
4.4.5.8 Hipertensión arterial	33
4.4.5.9 Endocrinopatías hiperlipidemizantes	34

4.4.5.10 Infecciones	35
4.5 Importancia del estudio del espesor de las capas arteriales	36
4.6 Infiltración grasa del miocardio e importancia patológica	37
4.6.1 Efecto de la edad sobre la infiltración grasa del miocardio	38
4.6.2 Efecto de la obesidad sobre la infiltración grasa del miocardio	38
4.6.3 Efecto de la dieta sobre la infiltración grasa del miocardio	38
4.6.4 Efecto sobre la conducción y contracción ventricular normal	39
4.6.5 Patologías y enfermedades que cursan con infiltración grasa del miocardio	39
4.6.5.1 Cardiomiopatía dilatada canina.	39
4.6.5.2 Cardiomiopatía arritmogénica del ventrículo derecho	40
4.6.5.3 Miocarditis	41
4.6.5.4 Síndrome metabólico	41
4.6.5.5 Hipoxia prolongada	41
4.7 Densidad de capilares en miocardio e importancia patológica	41
4.7.1 Posibles factores de variación de la densidad de capilares en miocardio	42
4.7.1.1 Disminución de la densidad de capilares en miocardio	42
4.7.1.2 Aumento de la densidad de capilares en miocardio	44
5. OBJETIVOS	45
5.1 Objetivo general	45
5.2 Objetivos particulares	45
6. HIPÓTESIS	45
6.1. Hipótesis nula	45
7. MATERIALES Y METODOS	46
7.1 Condiciones de trabajo	46
7.2 Procedimientos de muestreo	46
7.3 Análisis estadístico	55
8. RESULTADOS	56
8.1 Clasificación de lesiones vasculares	56
8.2 Espesor de las capas vasculares: íntima, media y adventicia, y diferencias según el tipo de lesión vascular	57
8.2.1 Espesor de la capa íntima y diferencias según el tipo de lesión vascular	57
8.2.2 Espesor de la capa media y diferencias según el tipo de lesión vascular	57
8.2.3 Espesor de la capa adventicia y diferencias según el tipo de lesión vascular	57
8.3 Volúmenes porcentuales de adipocitos, tejido miocárdico y vasos sanguíneos en muestras de miocardio y su relación con el tipo de lesión vascular	57
8.3.1 Volumen porcentual de adipocitos asociados a	

paquetes vásculo-nerviosos	57
8.3.2 Volumen porcentual de adipocitos asociados a miocardio banal	58
8.3.3 Volumen porcentual de tejido miocárdico	58
8.3.4 Volumen porcentual de vasos	58
8.4 Densidad de adipocitos y su relación con el tipo de lesión vascular	58
8.5 Densidad de capilares sanguíneos y su relación con el tipo de lesión vascular	58
8.6 Sexo del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	59
8.7 Edad del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	59
8.8 Tamaño corporal del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	59
8.9 Estado de carnes del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	60
8.10 Tipo de alimentación del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	60
8.11 Régimen de vida del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	60
8.12 Temperamento del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular	61
8.13 Convivencia con fumadores y su relación con el tipo de lesión vascular	61
8.14 Densidad de capilares en miocardio	61
8.14.1 Edad del individuo y su relación con la densidad de capilares	61
8.14.2 Estado de carnes del individuo y su relación con la densidad de capilares	62
8.14.3 Sexo del individuo y su relación con la densidad de capilares	62
8.14.4 Tamaño corporal del individuo y su relación con la densidad de capilares	62
8.14.5 Régimen de vida del individuo y su relación con la densidad de capilares	62
8.15 Densidad de adipocitos en miocardio	63
8.15.1 Edad del individuo y su relación con la densidad de adipocitos	63
8.15.2 Estado de carnes del individuo y su relación con la densidad de adipocitos	63
8.15.3 Sexo del individuo y su relación con la densidad de adipocitos	63
8.15.4 Tamaño corporal del individuo y su relación con la densidad de adipocitos	64
8.15.5 Régimen de vida del individuo y su relación con la densidad de adipocitos	64
8.16 Clasificación de lesiones ateroscleróticas en perros	64
8.17 Descripción individual de los casos con lesiones vasculares tipo III o mayor	75

9. DISCUSIÓN	83
10. CONCLUSIONES	87
11. BIBLIOGRAFÍA	89
12. ANEXOS	104
12.1 Anexo I	104
12.2 Anexo II	107
12.3 Anexo III	108

LISTA DE FIGURAS, FOTOGRAFÍAS Y CUADROS

FIGURAS

1. Principales estructuras anatómicas del corazón del perro	5
2. Ubicación y trayectoria de las principales arterias que irrigan el corazón del perro	6
3. Sección transversal de una arteria normal, donde se especifican las diferentes capas concéntricas que forman la pared vascular	9
4. Formación y progresión de la placa de ateroma	16
5. Individuos distribuidos según los distintos tipos de lesiones vasculares	56
6. Porcentajes de muestras sin lesiones y con lesiones	56

FOTOGRAFÍAS

1. Imagen donde se observa la arteria coronaria izquierda y sus ramas	7
2. Lesión tipo II (estría grasa) de la AHA	20
3. Imagen histológica de la aorta abdominal de un conejo, evidenciando una lesión tipo II	20
4. Imagen histológica de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo III (intermedia)	21
5. Lesión tipo IV (ateroma) de la AHA	22
6. Imagen histológica correspondiente a la misma placa aterosclerótica de la fotografía anterior	23
7. Imagen histológica de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo IV	23
8. Lesión tipo V (fibroateroma) de la AHA	24
9. Imagen histológica donde se observa la arquitectura general de una lesión tipo V	25
10. Imagen histológica de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo V	25
11. Lesión tipo VI (complicada)	26
12. Imagen histológica de miocardio del ventrículo izquierdo de un perro con CMD del tipo de infiltración grasa degenerativa	40
13. Fotografía que muestra el abordaje de la cavidad torácica, durante el proceso de toma de muestras	47
14. Fotografía que exhibe la cavidad torácica	47
15. Fotografía que muestra el corazón luego de ser retirado de la cavidad torácica	48
16. Fotografía donde se especifica el sitio de muestreo de la primera bifurcación de la arteria coronaria izquierda en las ramas paraconal y circunfleja	48
17. Fotografía que muestra el sitio de muestreo que incluye miocardio ventricular y una porción más distal del trayecto de la arteria paraconal	49
18. Imagen que ejemplifica el método de medición del espesor en micras de la capa íntima	51
19. Imagen histológica de otra sección del vaso del mismo preparado de la fotografía anterior, ejemplificando el método de medición del espesor de la capa media	51
20. Imagen histológica de otra sección del vaso del mismo preparado de las fotografías anteriores, donde se exhibe el método de medición de la	

capa adventicia	52
21. Imagen que muestra el método utilizado para la medición de la densidad de capilares	52
22. Imagen utilizada para determinar el número de adipocitos/imagen, y los volúmenes porcentuales de adipocitos, vasos y tejido miocárdico	53
23. Exposición de la misma imagen de la fotografía anterior; se ejemplifica el método utilizado con el agregado de la cuadrícula con 80 puntos para el cálculo de los volúmenes porcentuales de adipocitos, vasos y tejido miocárdico	54
24. Imagen donde se observa un conjunto de adipocitos asociados a un paquete vásculo-nervioso	54
25. Exposición de la misma imagen de la fotografía anterior con el agregado de la cuadrícula de 80 puntos	55
26. Imagen histológica correspondiente a la arteria paraconal de un perro cruza de 13 años que muestra la estructura de la pared vascular normal	65
27. Imagen a mayor aumento correspondiente al mismo preparado de la fotografía anterior	65
28. Imagen histológica de la arteria paraconal de una perra cruza de 5 años de edad donde se vuelve a observar la estructura de la pared vascular normal	66
29. Imagen histológica a mayor aumento correspondiente al mismo preparado de la fotografía anterior	66
30. Lesión tipo I (inicial). Imagen histológica de una porción de la arteria paraconal de una perra Pastor Alemán de 2 años y medio de edad	67
31. Lesión tipo I (inicial). Imagen histológica de un sector de la arteria paraconal de un perro Pastor Alemán de 12 años de edad	67
32. Lesión tipo II (estría grasa). Imagen histológica de la arteria paraconal de un perro Cocker Spaniel de 10 años de edad	68
33. Lesión tipo II (estría grasa). Imagen histológica de la arteria paraconal de una perra Pastor Alemán de 11 años de edad	68
34. Lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica de un sector de la arteria paraconal de una perra Mastín Napolitano de 9 años de edad	69
35. Lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica de una porción de la arteria paraconal de una perra Dálmata de 10 años de edad	69
36. Lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica de un sector de la arteria paraconal de un perro Mastín Napolitano de 5 años de edad	70
37. Lesión tipo IV (ateroma). Imagen histológica de una región de la arteria paraconal de un perro Cocker Spaniel de 15 años de edad	70
38. Lesión tipo IV (ateroma). Imagen correspondiente al mismo preparado histológico de la fotografía anterior	71
39. Lesión tipo IV (ateroma). Imagen correspondiente al mismo preparado histológico de las fotografías anteriores	71
40. Lesión tipo V (fibroateroma). Imagen histológica de la arteria paraconal de una perra Fox Terrier de 13 años y medio de edad	72
41. Lesión tipo V (fibroateroma). Imagen correspondiente al mismo preparado histológico de la fotografía anterior	72
42. Lesión tipo V (fibroateroma). Imagen histológica correspondiente al mismo preparado de las dos fotografías anteriores	73
43. Lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica de la arteria paraconal de un perro Fila de 8 meses de edad	73

44. Lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica de otro sector de la misma arteria de la fotografía anterior	74
45. Lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica a mayor aumento de otro sector de la misma arteria de las fotografías anteriores	74
46. Lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica a mayor aumento del núcleo lipídico señalado en la fotografía 44	75
47. Lesión tipo VI (complicada). Imagen de otro sector de la pared arterial correspondiente a los mismos preparados histológicos anteriores	75
48. Lesión tipo III. Imagen correspondiente al individuo M7-9B47	76
49. Lesión tipo III. Imagen correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior	76
50. Lesión tipo III. Imagen correspondiente al individuo H9-10C53	77
51. Lesión tipo III. Imagen correspondiente al individuo H29-11C58	77
52. Lesión tipo III. Imagen correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior	78
53. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al individuo H30-5C1	78
54. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior	79
55. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al mismo individuo de las fotografías anteriores	79
56. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al individuo M5-7B22	80
57. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al individuo M13-9C49	80
58. Lesión tipo IV. Imagen correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior	81
59. Lesión tipo V. Imagen correspondiente al individuo H15-5C5	81
60. Lesión tipo V. Imagen correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior	82
61. Lesión tipo V. Imagen correspondiente al individuo M13-6A17	82

CUADROS

1. Factores de riesgo de la aterosclerosis humana	27
2. Espesor de las capas vasculares íntima, media y adventicia en arterias coronarias de perros con lesiones (tipos I a III o mayor) o sin lesiones	57
3. Volúmenes porcentuales de adipocitos en paquetes vásculo-nerviosos y en miocardio banal, de miocardio y de vasos, y densidad de adipocitos en muestras de miocardio de perros	58
4. números de capilares relacionadas al tipo de lesión vascular en muestras de miocardio	58
5. Sexo y tipo de lesión vascular	59
6. Rangos etarios y tipo de lesión vascular	59
7. Tamaños corporales y lesiones vasculares	59
8. Estado de carnes y lesiones vasculares	60
9. Tipo de alimentación y lesiones vasculares	60
10. Régimen de vida y lesiones vasculares	60
11. Temperamento y lesiones vasculares	61
12. Convivencia con fumadores y lesiones vasculares	61
13. Rango etarios y número de capilares en muestras de miocardio	61
14. Estado de carnes y número de capilares en muestras de miocardio	62
15. Sexo y números de capilares en muestras de miocardio	62
16. Tamaño corporal y números de capilares en muestras de miocardio	62

17. Régimen de vida y números de capilares en muestras de miocardio	63
18. Rangos etarios y densidad de adipocitos en muestras de miocardio	63
19. Estado de carnes y densidad de adipocitos en muestras de miocardio	63
20. Sexo y densidad de adipocitos en muestras de miocardio	64
21. Tamaño corporal y densidad de adipocitos en muestras de miocardio	64
22. Régimen de vida y densidad de adipocitos en muestras de miocardio	64

1. RESUMEN

La aterosclerosis es una enfermedad ampliamente estudiada en humanos, y son muchos los factores predisponentes conocidos. Al igual que en humanos, los perros pueden sufrir de aterosclerosis. Las características histopatológicas de las lesiones ateroscleróticas caninas son similares a las de los humanos. Habiéndose encontrado recientemente una relación entre la aparición de lesiones ateroscleróticas experimentales en las arterias coronarias del perro y la edad del sujeto, nuestro objetivo fue hacer un estudio de campo describiendo las características histológicas y la eventual presencia de lesiones en las arterias coronarias y en sus ramas en el perro, y estudiar las eventuales correlaciones entre diversos factores predisponentes (sexo, edad, tamaño, estado de carnes, tipo de alimentación, estilo de vida y convivencia o no con fumadores del perro doméstico), lesiones vasculares coronarias, abundancia de adipocitos y de capilares sanguíneos. Se muestreó aleatoriamente 68 perros fallecidos, en un plazo no mayor a 3 horas. Una muestra del corazón fue tomada del surco coronario, donde la arteria coronaria izquierda se bifurca en las ramas paraconal y circunfleja, para determinar el espesor de las capas íntima, media y adventicia de la arteria paraconal. La otra muestra incluyó tejido miocárdico en las porciones más distales de la arteria paraconal, para determinar la densidad y el volumen porcentual de adipocitos en miocardio y paquetes vásculo-nerviosos asociados, y la densidad de capilares sanguíneos. Las muestras - fijadas en formol - fueron procesadas histológicamente con técnicas clásicas. Se clasificó los diferentes tipos de lesión vascular encontradas y se determinó que 22,4% de los individuos evaluados no presentaron lesiones, 42,8% tuvieron lesiones tipo I, 18,3% tuvieron lesiones tipo II y 16,3% tuvieron lesiones tipo III o mayor. El espesor de la capa íntima de las lesiones tipo III o mayor fue mayor que en las lesiones de tipos I o II ($P=0,00$). El espesor de la capa media en las lesiones tipo III o mayor tendió a ser mayor que en las lesiones tipo I o II ($P=0,08$). El espesor de la capa adventicia en las lesiones tipo III o mayor tendió a ser mayor que en las lesiones tipo I o II ($P=0,14$). No se encontró diferencias en el resto de las variables morfométricas respecto a los tipos de lesiones vasculares, la edad, el estado de carnes, el sexo, el tamaño corporal y el régimen de vida. La densidad de adipocitos en miocardio tendió a ser mayor en las franjas etarias de 3 a 8 años ($P=0,18$) y de más de 9 años ($P=0,11$) respecto a la franja etaria de 0 a 2 años. Los casos que presentaron lesiones vasculares más avanzadas (tipo III o mayor) se asociaron con distintas patologías severas. Este es el primer estudio de campo que clasifica lesiones ateroscleróticas coronarias en una población de perros, no sólo para nuestro país, sino a nivel mundial.

2. SUMMARY

Atherosclerosis is a well known disease in humans, with many predisposing factors described. Like humans, dogs can suffer from atherosclerosis. The histopathologic traits of canine atherosclerotic lesions are similar to those of humans. Since a link between a dog's age and the development of atherosclerotic lesions in coronary arteries has been recently reported, our objective was to describe the histological characteristics and the possible presence of lesions in coronary arteries and their branches in the dog, and to study any correlations between various predisposing factors (gender, age, body size, body condition, type of food, lifestyle and cohabitation with smokers), coronary vascular lesions and abundance of adipocytes and capillaries. Sixty-eight deceased dogs were randomly sampled within a period not exceeding 3 hours. A sample of the heart was taken from the coronary sulcus, where the left coronary artery bifurcates into the circumflex and paraconal branches, in order to determine the thickness of the intima, media and adventitia layers of the paraconal artery. Another sample consisted of myocardial tissue from the distal portion of the paraconal artery, in order to determine the density and the percentual volume of adipocytes in the myocardium and in associated neurovascular bundles, and the density of capillaries. Formalin-fixed samples were processed for standard histology. We classified the different types of vascular injury and determined that 22.4% of individuals tested showed no lesions, 42.8% had type I lesions (microscopic), 18.3% had type II lesions and 16.3 had type III or greater lesions. The thickness of the intima in type III or greater lesions was higher than in those from types I or II ($P=0.00$). The thickness of the media layer in type III or greater lesions tended to be higher than in those from types I or II ($P=0.08$). The adventitia layer thickness in type III or greater injuries tended to be higher than in those from types I or II ($P=0.14$). No difference was found in other morphometric variables according to vascular lesions, age, body condition, sex, body size or life regime. The density of adipocytes in myocardium tended to be higher in the age ranges from 3 to 8 years ($P=0.18$) and more than 9 years ($P=0.11$) as compared to the age group 0 to 2 years. The more advanced cases of vascular lesions (type III or greater) were associated with various severe pathologies. This is the first field study classifying coronary atherosclerotic lesions in a population of dogs, not only for our country but worldwide as well.

3. INTRODUCCION

Es bien conocido que los problemas cardíacos en el ser humano están sujetos a una influencia ambiental muy importante. En particular, la edad, la alimentación y el estilo de vida tienen una gran influencia sobre la aparición o no de lesiones vasculares en las arterias coronarias y sus ramas. En los últimos años, se han encontrado datos que sugieren que una situación similar puede ocurrir en el perro doméstico. En particular, los perros pueden sufrir de aterosclerosis, y al igual que en seres humanos se depositan apolipoproteínas en placas de ateroma que pueden mineralizarse, y llegar a obstruir las luces arteriales. En condiciones experimentales, este proceso se ha encontrado en perros de más de 10 años de edad pero no en perros de menos de 3 años (Sako y col., 2003). Las características histopatológicas e inmunohistoquímicas de las lesiones ateroscleróticas caninas son similares a las de los humanos, caracterizándose por el depósito e infiltración de lípidos cargados de células espumosas en la capa íntima y la capa media, a veces formando placas fibroadiposas, que contienen abundante material sudanofílico (es decir, lípidos), estrias de colesterol y material mineralizado. Las lesiones se inician en la capa íntima y se extienden a las capas media y adventicia (Kagawa y col., 1998).

Las lesiones arteriales ateroscleróticas han sido estudiadas extensamente en el ser humano y en animales de experimentación. Hace unos años se ha estandarizado la descripción y clasificación de las mismas.

Durante el siglo pasado, se han realizado importantes avances en el desarrollo de modelos animales (roedores, aves, cerdos, perros, gatos y primates no humanos) de enfermedad arterial coronaria humana. Casi todas las investigaciones apoyan el papel causal de los niveles de colesterol plasmático en el desarrollo de aterosclerosis, pero existe evidencia que indica la presencia de otros factores de riesgo tales como el estrés oxidativo, la inflamación, y la infección entre otros (Moghadasian, 2002).

Habiéndose encontrado recientemente una relación entre la aparición de lesiones ateroscleróticas en las arterias coronarias del perro y la edad del sujeto, surge la pregunta de si la vida sedentaria junto al alto consumo de grasas se relacionan con la aparición de lesiones ateroscleróticas, tal como ocurre en el ser humano.

4. REVISION BIBLIOGRAFICA

4.1 Corazón del perro y su irrigación

4.1.1 Generalidades del corazón del perro

El corazón es el órgano central, muscular y hueco que bombea sangre continuamente a través de los vasos sanguíneos mediante contracción rítmica (Getty, 2005). Está constituido por cuatro cámaras: atrios derecho e izquierdo, y ventrículos derecho e izquierdo (ver figura 1). Atrio y ventrículo de cada lado se comunican a través de una gran apertura. El corazón por lo tanto se configura como dos bombas organizadas en serie: la derecha recibe sangre pobre en oxígeno y la proyecta dentro del tronco pulmonar, que la lleva a los pulmones para su reoxigenación; la bomba izquierda recibe sangre arterial rica en oxígeno desde los pulmones y la proyecta dentro de la aorta, que la distribuye una vez más por el cuerpo (Dyce y col., 1999).

El corazón está casi completamente revestido por un saco fibroso cerrado llamado pericardio, profundamente invaginado por el corazón. Este espacio contiene un líquido seroso que permite el fácil movimiento de la pared cardíaca contra su cubierta (Dyce y col., 1999). La capa media de la pared es gruesa (miocardio) y está constituida por músculo cardíaco estriado. Está cubierto externamente por el pericardio visceral (epicardio) e internamente por el endocardio, una capa fina de superficie lisa que se continúa con el revestimiento (capa íntima) de los vasos sanguíneos (Getty, 2005).

El corazón, junto con el pericardio, está incluido en el mediastino. Es cónico y se sitúa asimétricamente en el tórax con aproximadamente el 60% situado a la izquierda del plano medio (Getty, 2005). La base es dorsal y alcanza aproximadamente el plano horizontal que bisecciona la primera costilla; el vértice se sitúa cerca del esternón, frente al sexto cartílago costal. El eje mayor que une la base con el vértice se dirige caudoventralmente con alguna desviación hacia la izquierda, impuesta por la orientación oblicua. La proyección del corazón sobre la pared torácica se extiende entre la tercera y sexta costillas (Dyce y col., 1999).

4.1.2 Anatomía general del corazón del perro

El corazón canino es ligeramente ovoide y su peso es aproximadamente un 0,7% del peso corporal (ver figura 1). La base del corazón se forma por los atrios, separados de los ventrículos por un surco coronario circular que contiene los troncos principales de los vasos coronarios ocultos por una cubierta de grasa (Getty, 2005). En la cara izquierda del corazón se encuentran las aurículas abrazando al tronco pulmonar, y debajo del nivel del surco coronario (por definición, ver próximo párrafo) está el surco interventricular paraconal. En la cara derecha se encuentran los atrios y el surco interventricular subsinusal (Dyce, 1999). El músculo ventricular es más grueso que el atrial, y ambos músculos se organizan en fascículos superficiales y profundos (Dyce, 1999).

Los ventrículos forman la mayor parte del corazón a causa del grosor de sus paredes (Dyce, 1999). El surco paraconal (izquierdo) se dispone cerca de la unión craneal del corazón; el surco subsinusal (derecho) va próximo a la parte caudal; ambos contienen vasos que siguen los bordes del tabique interventricular y juntos revelan la disposición asimétrica de los ventrículos

(Getty, 2005). La cámara derecha se sitúa tanto cranealmente como a la derecha de la cámara izquierda. Existen algunas ramas de los vasos coronarios que se extienden sobre la superficie ventricular (Dyce, 1999).

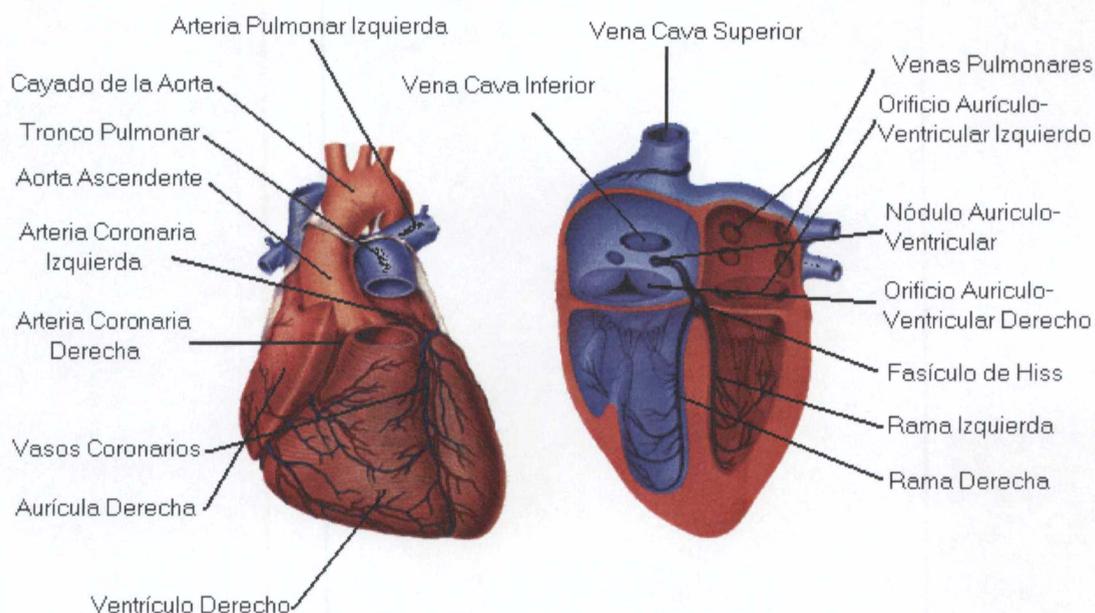


Figura 1: principales estructuras anatómicas del corazón del perro (adaptado de <http://jesade.wordpress.com/category/articulos-sobre-perros-y-gatos/>).

Atrio derecho: es en donde se descargan las principales venas sistémicas. Su techo está hundido entre la abertura de las venas cavas, estando indentado por el paso de las venas pulmonares para penetrar en el atrio izquierdo (Dyce, 1999). El interior es muy irregular debido a la serie de músculos pectinados que se ramifican desde la cresta terminal, que marca el límite entre la aurícula y el compartimento principal (Getty, 2005).

Atrio izquierdo: en general su forma es similar a la descrita en el atrio derecho. Recibe las venas pulmonares, que entran separadamente o en grupos. La pared del tabique puede presentar una cicatriz que marca la posición de la válvula del agujero oval fetal (Dyce, 1999).

Ventriculo derecho: esta cámara envuelve las caras derecha y craneal del ventriculo izquierdo; es de forma semilunar en su sección transversal. La válvula atrioventricular derecha (tricúspide) se compone de tres cúspides que se unen a un anillo fibroso que rodea la apertura. La apertura en el tronco pulmonar se sitúa un nivel más dorsal que el orificio atrioventricular y es craneoizquierda respecto al origen de la aorta. Se cierra durante la relajación ventricular (diástole) por el retroceso del flujo de la sangre obligando a juntarse a las tres cúspides que se originan alrededor de su borde y que constituyen la válvula pulmonar (Dyce, 1999).

Ventriculo izquierdo: en su sección transversal esta cámara es circular y forma por completo el vértice del corazón. Excepto en el vértice, su pared es más gruesa que la del ventriculo derecho. La válvula atrioventricular izquierda (bicúspide o mitral) generalmente sólo tiene dos cúspides mayores. La válvula aórtica, en términos generales es similar a la válvula pulmonar (Dyce, 1999).

4.1.3 Irrigación del corazón del perro

El corazón recibe alrededor del 15% de sangre que sale del ventrículo izquierdo. La sangre es conducida a través de las arterias coronarias que surgen de dos de los tres senos situados encima de las cúspides semilunares al comienzo de la aorta (Dyce y col., 1999). Las principales arterias que irrigan el corazón son las arterias coronarias derecha e izquierda (figura 2); éstas ocupan los surcos coronarios (atrioventriculares) e interventricular. Se puede afirmar que la arteria coronaria izquierda irriga más extensión cardíaca que la derecha (Getty, 2005).

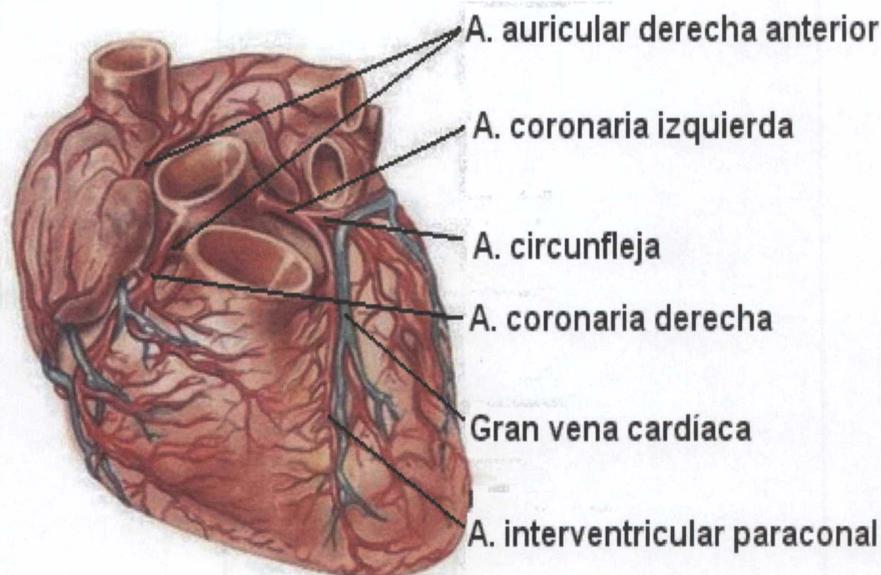


Figura 2: ubicación y trayectoria de las principales arterias que irrigan el corazón del perro.

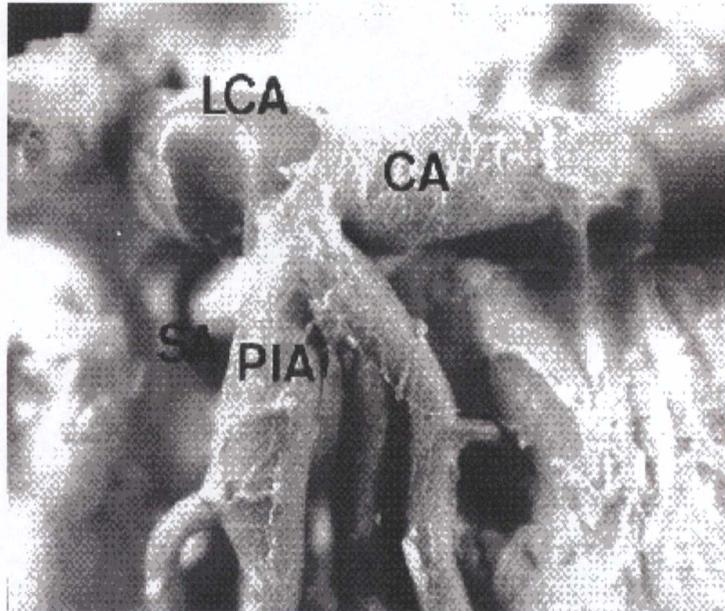
La arteria coronaria izquierda habitualmente es mayor (Dyce y col, 1999). Se origina de un tronco en el seno aórtico (Büll y Martins, 2002), por encima de la cúspide caudoizquierda y alcanza el surco coronario pasando entre la aurícula izquierda y el tronco pulmonar (figura 2); se divide casi inmediatamente en la rama interventricular izquierda (paraconal) que continúa por el surco del mismo nombre hacia el vértice del corazón, y el tronco que continúa como una rama circunfleja que sigue el surco coronario hacia la parte caudal del corazón y continúa dentro del surco interventricular (Dyce y col, 1999).

La rama interventricular paraconal (ver fotografía 1) es una arteria colateral de la arteria coronaria izquierda (Christensen, 1962); después de originar ramas ventriculares ántero-derecha, ántero izquierda y septales, termina próxima al ápice del corazón (Büll y Martins, 2002).

La arteria circunfleja (fotografía 1) presenta un trayecto para la izquierda hasta la cara atrial, donde termina como arteria interventricular subsinusal. Originándose de la arteria circunfleja se encuentran las ramas atriales, ventriculares, septales y del nódulo atrioventricular (Büll y Martins, 2002).

La arteria coronaria derecha sale por encima de la cúspide craneal y alcanza el surco coronario después de pasar entre la aurícula derecha y el tronco pulmonar (figura 2). Sigue un curso circunflejo hacia el origen del surco subsinusal. Ambas arterias coronarias emiten ramas hacia las paredes atriales

y ventriculares; estas ramas tienen un tamaño y posición variables (Dyce y col, 1999, y Büll y Martins, 2002).



Fotografía 1: imagen donde se observa la arteria coronaria izquierda (LCA, del inglés *left coronary artery*) y sus ramas: las arterias interventricular paraconal (PIA, del inglés, *paraconal interventricular artery*) y circunfleja (CA, del inglés *circumflex artery*). Se observa también la arteria septal (SA, del inglés *septal artery*), la cual es una rama de la PIA (Büll y Martins, 2002).

Entre las ramas principales de las arterias coronarias no existen anastomosis, pero son numerosas entre las ramas más pequeñas. Incluso así, cuando se produce un cierre brusco de uno de estos pequeños vasos, habitualmente no puede ser compensado; esto da lugar a una isquemia local del músculo cardíaco (Dyce y col., 1999).

Resumiendo, el corazón está irrigado por las arterias coronarias derecha e izquierda. La arteria coronaria derecha atraviesa la parte correspondiente del surco coronario y se divide en ramas interventriculares y subsinusoidales. La arteria coronaria izquierda se divide en la rama interventricular paraconal que desciende por el surco interventricular paraconal y la rama circunfleja que discurre por el surco coronario izquierdo. La musculatura cardíaca también está irrigada por los vasos septales y ramas intermedias (Getty, 2005).

El retorno sanguíneo hacia el corazón se efectúa principalmente a través de la gran vena cardíaca (figura 2) que se abre dentro del atrio derecho por medio del seno coronario. Muchas venas más pequeñas se abren directamente dentro de las cuatro cámaras del corazón (Dyce y col., 1999).

4.2 Estructura normal de las arterias del perro

Los datos obtenidos de la bibliografía permiten concluir que la estructura normal de las arterias del perro es similar a la de otras especies de mamíferos, incluyendo a los humanos.

Las paredes arteriales en los mamíferos son espesas y compactas, lo que les permite resistir las altas presiones generadas dentro del sistema circulatorio. Están compuestas por tres cilindros concéntricos dispuestos uno dentro del

otro (túnicas o capas íntima, media y adventicia), en los cuales existen componentes celulares y extracelulares.

La estructura de los vasos refleja las distintas exigencias funcionales que existen en diferentes puntos del organismo y varía de acuerdo con ello. Existen tres clases de arterias según su tamaño y sus caracteres estructurales: 1) arterias gruesas o elásticas, como por ejemplo la aorta y sus grandes ramas, y las arterias carótida común, ilíaca y pulmonar; 2) arterias de mediano tamaño o musculares, que comprenden a otras ramas de la aorta, como las arterias coronarias y las renales; 3) arterias pequeñas, las cuales discurren, en su mayor parte, por el interior de los tejidos y órganos (Schoen y Cotran, 2000).

Los constituyentes básicos de las paredes de los vasos sanguíneos son las células endoteliales, las células del músculo liso (CML) y la matriz extracelular (MEC) que comprende elastina, colágeno y glucosaminoglucanos (Libby, 2002a).

La adaptación a las necesidades mecánicas o metabólicas hace que la cantidad relativa y la disposición de los elementos estructurales varíen a lo largo del árbol arterial. En las arterias elásticas, la túnica media contiene muchas fibras elásticas dispuestas en capas bastante compactas que están alternativamente separadas por capas de fibras musculares lisas; estos elementos elásticos permiten por ejemplo que la aorta se distienda durante la sístole y acumule parte de la energía del latido cardíaco. En las arterias musculares, la capa media está formada principalmente por fibras musculares lisas dispuestas circularmente o en espiral; sólo hay elastina en las membranas limitantes interna y externa. En las arterias musculares y en las arteriolas, el riego sanguíneo regional y la presión arterial están regulados por las variaciones de tamaño de la luz que se producen cuando las fibras musculares lisas se contraen (vasoconstricción) o se relajan (vasodilatación), fenómenos controlados por el sistema nervioso autónomo, factores metabólicos locales e interacciones celulares (Schoen y Cotran, 2000).

Las arteriolas son las ramas arteriales más pequeñas. El grado de contracción de la musculatura lisa de la media arteriolar modifica enormemente el diámetro de la luz vascular; de ese modo se regula la presión arterial en la circulación general y se producen variaciones considerables en la distribución del riego sanguíneo en los diversos lechos capilares. Así pues, las arteriolas son fisiológicamente los puntos principales de la resistencia al flujo sanguíneo, siendo responsables de una intensa disminución de la presión y la velocidad de la sangre, así como del pasaje de un flujo pulsátil a un flujo continuo. Además, las pequeñas arterias y las arteriolas son las más castigadas por las elevaciones de la presión arterial; el estrés anormal también altera su estructura (Schoen y Cotran, 2000). Por ejemplo, lesiones vasculares como la aterosclerosis, afectan en gran parte a las arterias elásticas y musculares; la hipertensión daña principalmente a las pequeñas arterias musculares y a las arteriolas, y ciertas formas de vasculitis se asocian a determinados segmentos vasculares (Schoen y Cotran, 2000).

Los capilares tienen aproximadamente el diámetro de los hematíes y son de paredes delgadas. Están revestidos por células epiteliales, y por fuera se apoyan en una delgada lámina basal; carecen de capa media. La estructura de los capilares varía según los sitios, especialmente según el grado de continuidad del endotelio y de la lámina basal. Los capilares del músculo y del corazón poseen una capa endotelial continua (Schoen y Cotran, 2000).

La sangre que retorna al corazón desde los lechos capilares pasa inicialmente a las vénulas poscapilares y después, sucesivamente y a través de las vénulas colectoras, a las venas de pequeño, mediano y grueso calibre (Schoen y Cotran, 2000).

4.2.1 Estudio de las capas que componen la pared arterial

La pared de los vasos sanguíneos está formada por tres capas concéntricas (figura 3), conocidas como tunicas: 1) íntima (interna), 2) media y 3) adventicia (externa) (Dellmann y Venable, 1993).

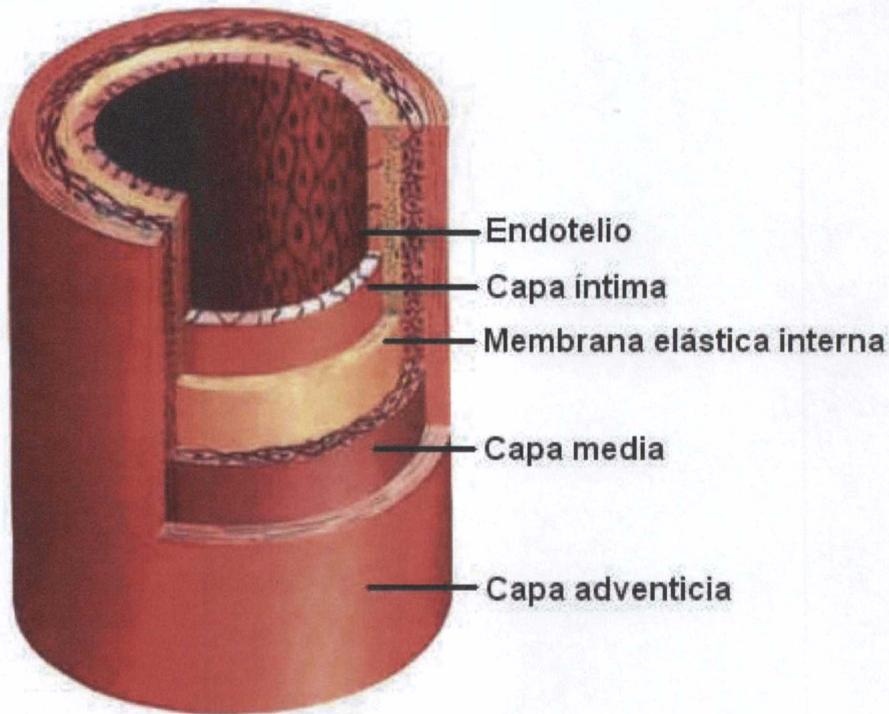


Figura 3: sección transversal de una arteria normal, donde se especifican las diferentes capas concéntricas que forman la pared vascular (adaptado de <http://www.araucaria2000.cl/scirculatorio/sistemacirculatorio.htm>).

4.2.2 Capa íntima

Es una monocapa de células endoteliales adosada a una lámina basal y constituye la superficie de contacto con la sangre circulante (figura 3); descansa bajo una membrana que contiene tipos de colágeno no fibrilar, tales como el colágeno tipo IV, laminina, fibronectina y otras moléculas de la matriz extracelular (Dellmann y Venable, 1993). La membrana elástica interna limita la túnica íntima y la túnica media subyacente (Libby, 2002a).

4.2.2.1 Endotelio

El endotelio es la zona de la capa íntima que entra en contacto con el torrente circulatorio. Es una interfase biológica de gran importancia en la homeostasis vascular y en las relaciones flujo sanguíneo-pared arterial (Rubany, 1933). El endotelio está compuesto por una monocapa de células metabólicamente muy activas que cubren todo el torrente circulatorio; se considera un verdadero

órgano con múltiples y delicadas funciones de tipo endócrino, parácrino y autócrino (Ross, 1993).

Las funciones más destacadas del endotelio vascular son:

- constituye una barrera semipermeable entre la sangre y la pared vascular; controla el paso de moléculas pequeñas y grandes al interior de la pared arterial y a través de las paredes de los capilares y las vénulas;
- modula el tono vascular y el riego sanguíneo; mantiene el equilibrio entre las sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras (función vasomotora);
- mantiene el equilibrio entre las sustancias procoagulantes y anticoagulantes, lo cual es una de las funciones más importantes para el mantenimiento de la homeostasis vascular;
- regula la proliferación y migración celular del músculo liso, macrófagos y fibroblastos de la pared vascular;
- modifica las lipoproteínas durante el transporte en la pared arterial;
- produce matriz extracelular;
- metaboliza ciertas hormonas;
- regula las reacciones inmunitarias e inflamatorias; controla en gran parte las interacciones de los leucocitos con la pared vascular (Maseri, 1997).

El endotelio es un tejido especializado que cambia su morfología celular según su localización o función en el torrente circulatorio. Las áreas con mayor predisposición al desarrollo de placas ateroscleróticas se encuentran en curvaturas y ramificaciones arteriales, presentando una morfología de tipo octogonal, mientras que en las zonas más resistentes a la aterosclerosis estas células tienen forma orientada en dirección al flujo circulatorio. La implicación bioquímica y biológica de la disposición octogonal es un aumento de la permeabilidad de la pared al paso de moléculas lipoproteicas y de otra naturaleza que predispone a una mayor tendencia al daño aterosclerótico (Hammerson y Hammerson, 1985).

La capa de células endoteliales descansa sobre una lámina basal debajo de la cual se encuentra el espacio subendotelial. Este último está compuesto por un complejo a base de colágeno, fibronectina, microfibrillas, proteoglicanos y elastina, en proporciones variables según el nivel del árbol vascular (Suarez Loaiza, 2001). Algunos de estos componentes son muy trombogénicos, por lo tanto cuando hay una lesión a nivel endotelial se favorecen los fenómenos trombogénicos con la formación de agregados plaquetarios y trombos.

4.2.2.2 Alteraciones funcionales y activación del endotelio

Las células endoteliales pueden responder a diversos estímulos anormales adaptando algunas de las funciones básicas y expresando propiedades recientemente adquiridas (inducidas). El término de disfunción endotelial describe varias clases de alteraciones potencialmente reversibles del estado funcional de las células endoteliales, las cuales se producen en respuesta a los estímulos ambientales (Pober y Cotran, 1990).

Algunas de esas alteraciones, llamadas de “estimulación endotelial”, indican la existencia de respuestas reversibles rápidas, que duran minutos y son independientes de la síntesis de nuevas proteínas, como por ejemplo las alteraciones de las células endoteliales inducidas por la histamina, la serotonina y otros mediadores vasoactivos que producen aumento de la permeabilidad vascular. Otras alteraciones, llamadas de “activación endotelial”,

reflejan una alteración en la expresión de los genes y la síntesis de proteínas, y pueden tardar horas e incluso días en aparecer (Schoen y Cotran, 2000).

La activación endotelial se desencadena por estímulos que se sabe favorecen la lesión vascular, y provoca respuestas que influyen en el comienzo y la evolución de las lesiones vasculares (Davies y Hagen, 1994 y Okamoto y col., 1996). Dentro de los inductores o activadores del endotelio se incluyen (Schoen y Cotran, 2000):

- citocinas y sustancias de origen bacteriano, siendo responsables de lesiones inflamatorias y del shock séptico;
- estrés hemodinámico y productos lipídicos, esenciales en la patogenia de la aterosclerosis;
- productos finales de la glucosilación avanzada, importantes en la diabetes;
- efectos de los virus, factores del complemento e hipoxia.

Las células endoteliales activadas elaboran a su vez moléculas de adhesión, otras citocinas y quimiocinas, factores de crecimiento, sustancias vasoactivas que producen vasoconstricción o vasodilatación, moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad, fracciones procoagulantes y anticoagulantes, y una serie de productos de los genes que poseen actividad biológica. Algunos activadores de las células endoteliales tienen en común la capacidad de generar estrés oxidativos (Schoen y Cotran, 2000).

4.2.2.3 Engrosamiento de la íntima: una respuesta a las lesiones vasculares

Las lesiones vasculares estimulan el crecimiento de las células musculares lisas al romper el equilibrio fisiológico que existe entre inhibición y estimulación. La reparación de la pared vascular lesionada, incluido el endotelio, consiste en una respuesta curativa fisiológica con formación de una neointima, que comprende: 1) la emigración de células musculares lisas desde la media a la íntima; 2) la multiplicación consecutiva de las células de la íntima, y 3) la síntesis y el depósito de matriz extracelular (Schoen y Cotran, 2000).

Es frecuente que las lesiones que producen solamente pérdidas focales del endotelio puedan ser reparadas mediante la emigración y proliferación de las células endoteliales colindantes. Las lesiones más extensas o más crónicas de las fibras musculares de la capa media provocan una serie de fenómenos de reparación más complejos (Davies, 1997).

4.2.3 Capa media

La capa media yace entre las membranas limitantes elásticas externa e interna (figura 3). Se compone de células musculares lisas en forma de envolturas concéntricas circulares o helicoidales, orientadas transversalmente al eje principal de la arteria. Distribuidas entre estas células musculares lisas hay fibras o láminas elásticas, así como fibras de colágeno. La interacción entre estos componentes permite la máxima interacción entre la resistencia a la tracción y la relativa inflexibilidad del colágeno con las propiedades de la elastina, con lo que se logra la mejor adaptación funcional de las arterias a las diversas circunstancias fisiopatológicas que puedan presentarse. La membrana elástica externa limita con la capa media, formando el límite con la capa adventicia (Dellmann y Venable, 1993).

4.2.3.1 Células musculares lisas de los vasos

Las células musculares lisas de los vasos son capaces de ejercer muchas funciones (Schoen y Cotran, 2000):

- vasoconstricción y vasodilatación en respuesta a estímulos normales o farmacológicos;
- síntesis de colágeno, elastina y proteoglucanos;
- elaboración de factores del crecimiento y de citocinas;
- posibilidad de emigrar a la capa íntima y proliferar.

Las células musculares lisas, como elemento predominante de la capa media de los vasos, constituyen una estructura importante no sólo en la reparación vascular normal, sino también en los procesos patológicos, como la aterosclerosis.

La capacidad migratoria y proliferativa de las fibras musculares lisas está regulada normalmente por factores favorecedores e inhibidores del crecimiento celular. Son favorecedores del crecimiento celular (Schoen y Cotran, 2000):

- factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), también elaborado por las células endoteliales y los macrófagos;
- factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF);
- interleucina-1 (IL-1).

Entre los inhibidores están:

- heparán sulfatos;
- óxido nítrico/factor relajador derivado del endotelio (NO/EDRF);
- interferón gamma (IFN- γ);
- factor de transformación del crecimiento β (TGF- β).

Las células musculares lisas de la capa media parecen ser de extremada importancia en la producción del proceso aterosclerótico, atrapando lípidos y emigrando hacia el subendotelio para constituirse en parte importante de la fisiopatología de la placa aterosclerótica (Clark y Glavo, 1979).

Las células contráctiles engloban dos tipos de elementos:

- células musculares lisas: semejantes a las existentes en otros lugares del organismo;
- células mio-arteriales: también conocidas como mio-fibroblastos o mio-intimales, que son específicas de estos vasos. Cuando están en situación de reposo son similares a las células musculares lisas de diversas vísceras. En determinadas circunstancias, tales como un proceso curativo, estos elementos adquieren cambios semejantes a una diferenciación y cambian de un fenotipo contráctil a un fenotipo proliferativo-sintético (Okamoto y col., 1996): pierden su poder contráctil (pierden los filamentos de miosina y la capacidad de contraerse), aumenta la cantidad de organelos implicados en la síntesis y secreción proteica, aumenta la síntesis de moléculas de la matriz extracelular e incluso aumentan su capacidad para multiplicarse (entran en mitosis). Muchas de estas células adquieren capacidad migratoria, invadiendo la íntima en proporciones notables. Las lesiones pueden inducir una intensa proliferación (Allaire y Clowes, 1997). Las células musculares lisas de la íntima pueden volver a su estado no proliferativo bien cuando la capa que cubre al endotelio se recupera después de haber sufrido una lesión aguda, o bien cuando desaparece algún estímulo crónico (Schoen y Cotran, 2000). Las respuestas curativas exageradas provocan

engrosamiento de la íntima, capaz de causar estenosis u oclusión de los vasos sanguíneos de pequeño y mediano tamaño (Schoen, 1989). Una disfunción endotelial acarrea una reacción inmediata de las células mioarteriales que pueden proliferar, invadir la íntima y comenzar un proceso que puede dar lugar a la aparición de una lesión aterosclerótica (Clark y Glavo, 1979).

4.2.4 Capa adventicia

La túnica adventicia se compone de fibrillas colágenas en un orden más relajado o discontinuo que las encontradas en la íntima (figura 3). Está formada por un cinturón de fibras elásticas adyacentes a la túnica externa y consta de numerosas fibras elásticas y de colágeno y fibroblastos (Dellmann y Venable, 1993). Los *vasa vasorum* y nervios terminan localizándose en esta capa externa de la pared arterial en los vasos de gran calibre. La adventicia tiene una población celular más esparcida que en otras capas arteriales, incluyendo fibroblastos y mastocitos (Libby, 2002a). Esta capa sirve de soporte mecánico a la arteria cuando la capa media arterial está debilitada por algún tipo de lesión vascular.

Numerosos estudios han sugerido su potencial importancia en la formación de la lesión vascular. Las reacciones de la adventicia son comunes en la aterosclerosis, así como en la arteritis. La hipercolesterolemia experimental en cerdos y primates no humanos estimula la acumulación de células inflamatorias en la adventicia arterial. La extensión de la inflamación de la adventicia asociada con placas ateroscleróticas humanas se correlaciona con la severidad de las lesiones en la capa íntima (Wilcox y Scott, 1996).

4.2.4.1 Respuesta de la adventicia en la lesión vascular

Existen pruebas que sugieren que la capa adventicia vascular se activa al comienzo de una variedad de enfermedades cardiovasculares, y que desempeña un papel importante en la iniciación y progresión de la inflamación vascular. En respuesta a una lesión vascular los fibroblastos de la adventicia producen grandes cantidades de especies químicas reactivas derivadas del oxígeno. Además, las citocinas inflamatorias, lípidos y varias hormonas implicadas en la proliferación y migración de fibroblastos, dan lugar al reclutamiento de células inflamatorias a la capa adventicia y al deterioro de la relajación dependiente del endotelio. En el desarrollo temprano de la enfermedad vascular, hay evidencia clara de la progresión hacia una red más densa de *vasa vasorum* en la adventicia que proporciona oxígeno y nutrientes a una capa media cada vez con más hipoxia y deficiencia de nutrientes; este aumento en la vascularización permite una mayor presencia de células inflamatorias en la adventicia y exterior de la capa media (Csányi y col. 2009).

En un estudio se observó la activación de la adventicia y específicamente los fibroblastos en el desarrollo de la aterosclerosis en ratones. Los resultados mostraron un aumento gradual en la expresión de colágeno tipo I y III después de 2, 4 y 8 semanas de administrar una dieta hiperlipídica. La expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (proteína MCP-1) y ARNm se detectó en los fibroblastos de la capa adventicia antes de la formación de lesiones en la capa íntima. También se encontró proliferación en los fibroblastos de la adventicia. Con este estudio se puede suponer que los fibroblastos de la adventicia se activan en las etapas iniciales de la aterosclerosis y la inflamación

de esta capa puede ser un evento temprano en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas (Xu y col., 2007).

En perros, se ha observado que una lesión aguda que afecte selectivamente a adventicia y media, estimula la producción de matriz extracelular, pero no la proliferación de las células. La migración de células musculares lisas y la posterior formación de una neointima, es inducida por células musculares lisas viables cuando existen los estímulos adecuados en el torrente sanguíneo (Hehrlein y col., 1995).

4.3 Lesiones vasculares

Las lesiones y enfermedades vasculares afectan principalmente a las arterias y, dentro de ellas, el problema más prevalente y de mayor importancia clínica en medicina humana es la aterosclerosis (Schoen y Cotran, 2000). En cambio, se considera que las lesiones ateroscleróticas son poco frecuentes en animales, y particularmente en los perros (Chiers y col., 2010).

La hipertensión, los procesos inflamatorios de los vasos y otras lesiones arteriales menos frecuentes también pueden causar una incapacidad considerable e incluso la muerte en seres humanos. Las demás enfermedades se destacan más por la incapacidad que producen; sin embargo la flebotrombosis puede provocar la muerte por trombosis seguida de embolia pulmonar (Schoen y Cotran, 2000).

4.4 Aterosclerosis

Aterosclerosis genéricamente se refiere a un engrosamiento de la pared vascular que afecta sobre todo la íntima y que está dado por la acumulación de células inflamatorias, neoformación de tejido conjuntivo y elementos exógenos. Se considera el resultado de una sobrecomposición de un sistema de defensa que en condiciones normales repara un daño producido en la pared vascular. El endotelio es la primera estructura vascular afectada por los procesos que conducen a la aterosclerosis (Rando y Dorf, 2002).

La aterosclerosis puede interpretarse como la respuesta defensiva obligada del tejido conectivo de la pared arterial ante una agresión permanente y de carácter exponencial. El orden biológico de la pared se ve alterado por los agentes agresores y como consecuencia obligada de la biología de los seres vivos, en la zona agredida se produce la correspondiente respuesta tisular defensiva caracterizada por las respuestas inflamatoria e inmune. La aterosclerosis debe ser considerada como una enfermedad del metabolismo general que se trasmite por la sangre y cuyo órgano diana es la pared arterial (Fernández-Britto, 1998).

Con más precisión, la arteriosclerosis es un término genérico que engloba a tres clases de enfermedades vasculares que tienen en común el engrosamiento y la pérdida de elasticidad de las paredes vasculares (Schoen y Cotran, 2000):

- *aterosclerosis*: es la forma más frecuente; se caracteriza por la formación de placas fibrosas en la íntima, que a menudo tienen un núcleo central rico en lípidos dispuestos en grumos;
- *arterioesclerosis de Mönckeberg* o *esclerosis cálcica de la media*: esta variedad morfológica de la aterosclerosis tiene mucha menos importancia clínica, y se caracteriza por el depósito de calcio en las arterias musculares de mediano tamaño en humanos mayores de 50

años; esas calcificaciones forman en la media placas irregulares o anillos transversales discretos. Aunque estas lesiones de la media no estrechan la luz vascular, las arterias afectadas pueden presentar también lesiones de aterosclerosis;

- *arterioloesclerosis*: afecta a las pequeñas arterias y arteriolas. Las dos formas anatómicas, hialina e hiperplásica, engrosan las paredes vasculares y estrechan la luz, pudiendo provocar distalmente lesiones isquémicas. Es la forma que más a menudo se asocia a hipertensión y a diabetes mellitus (Schoen y Cotran, 2000).

4.4.1 Importancia clínica

La aterosclerosis se caracteriza por unas lesiones de la íntima llamadas ateromas o placas fibroadiposas, que sobresalen en la luz, debilitan la media subyacente y sufren una serie de complicaciones (Schoen y Cotran, 2000).

La aterosclerosis humana afecta principalmente a las arterias elásticas (por ejemplo a la aorta, carótidas e ilíacas) y a las arterias musculares de tamaño mediano y grueso (por ejemplo coronarias y poplíteas). Cualquier órgano o tejido del cuerpo puede resultar afectado, pero la forma sintomática de la enfermedad aterosclerótica en humanos se localiza principalmente en las arterias que riegan al corazón, cerebro, riñones, miembros inferiores e intestino delgado; el infarto de miocardio, el infarto cerebral y los aneurismas de aorta son las principales consecuencias de esta enfermedad (Schoen y Cotran, 2000).

Al principio, los ateromas son focales y están esparcidos, pero a medida que el proceso avanza, se vuelven más numerosos y pueden cubrir toda la circunferencia de las arterias afectadas. Por ello, los ateromas son capaces de obstruir pequeñas arterias, de comprometer el riego distal de los órganos y de provocar lesiones isquémicas (Schoen y Cotran, 2000).

Las placas pueden romperse y desencadenar la formación de trombos que dificultan aún más el paso de sangre. En las grandes arterias, las placas se vuelven destructivas, invaden la media subyacente y debilitan la pared vascular, favoreciendo la trombosis o la rotura de la pared, o bien la formación de aneurismas (Amarenco y col., 1994).

La mayoría de los signos clínicos comunes que se han encontrado en perros afectados de aterosclerosis incluyen somnolencia, anorexia, debilidad, disnea, colapso y vómitos (Liu y col., 1986).

En un estudio se describe un caso de muerte súbita en un Shih tzu de 4 años de edad aparentemente sano con una historia de tos intermitente, presentándose algo aletargado los últimos 2 días previos a su muerte. Se le diagnosticó mediante histopatología un caso de displasia fibromuscular, la cual es un grupo heterogéneo de lesiones vasculares caracterizadas por el engrosamiento fibroso y fibromuscular que implica las capas, íntima, media o adventicia. El estrechamiento luminal puede resultar en lesiones isquémicas del miocardio (Mete y McDonough, 2010).

4.4.2 Morfología

Las lesiones esenciales de la aterosclerosis son el engrosamiento de la íntima y una acumulación de lípidos que produce las características placas ateroscleróticas. Estas placas conforman la lesión básica que consiste en una placa focal elevada en el seno de la íntima, con un núcleo que contiene lípidos

(principalmente colesterol y sus ésteres) y una cubierta fibrosa (Schoen y Cotran, 2000).

Las placas ateroscleróticas, también llamadas placas fibrosas, fibroadiposas, lipídicas o fibrolipídicas, son de color blanco o blanco amarillento e invaden la luz de la arteria. Al corte, la superficie luminal de estas lesiones tiende a ser más firme y más blanca (envoltura fibrosa), mientras que las partes profundas son amarillas o blanco amarillentas y blandas. El centro de las placas grandes puede contener residuos con aspecto de grumos amarillos (Schoen y Cotran, 2000). Las lesiones ateroscleróticas suelen afectar sólo a una parte de la circunferencia de la pared arterial (lesiones excéntricas), son variables y están esparcidas irregularmente a lo largo del vaso (figura 4).

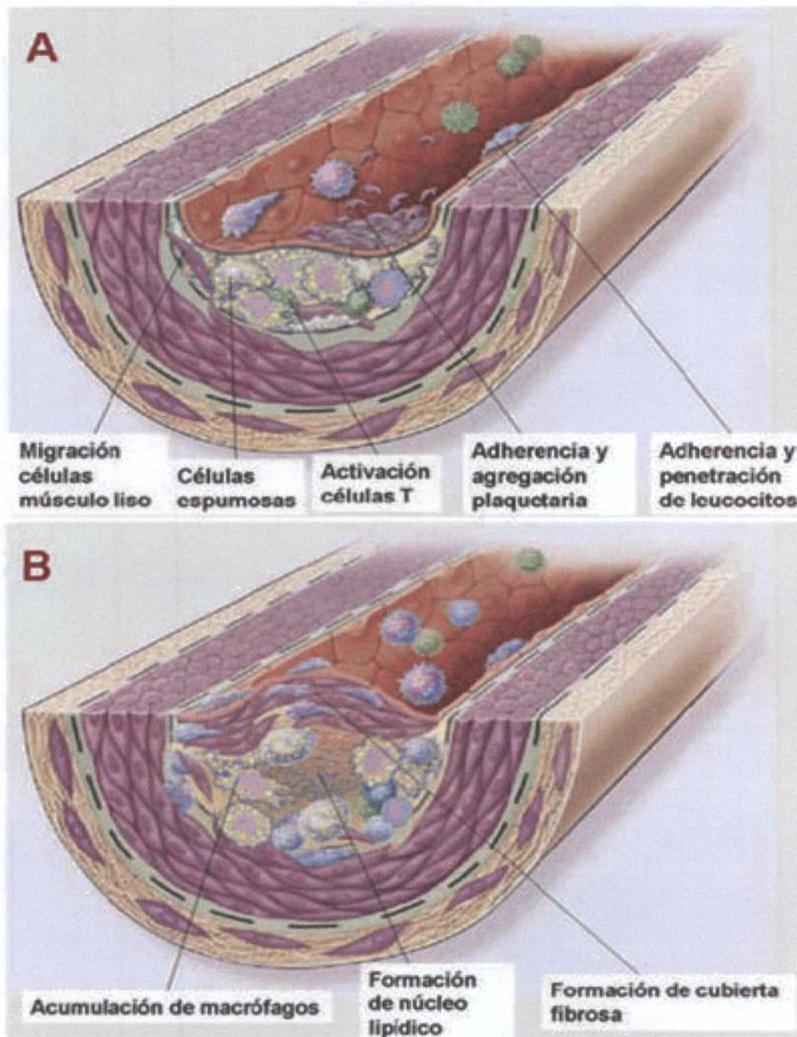


Figura 4: formación y progresión de la placa de ateroma. La figura representa esquemáticamente la complejidad y los mecanismos celulares que determinan la formación (A) y la progresión (B) de la placa de ateroma (adaptado de www.cardioquiron.com).

Las placas ateroscleróticas están formadas por tres componentes (Schoen y Cotran, 2000):

- células, incluyendo fibras musculares, macrófagos y otros leucocitos;
- matriz extracelular, que contiene colágeno, fibras elásticas y proteoglicanos;

- depósitos intra y extracelulares de lípidos.

Estos componentes se encuentran en proporciones variables en las distintas placas, dando lugar a distintos tipos de lesiones. Normalmente, la envoltura fibrosa superficial está formada por células musculares lisas, escasos leucocitos y un tejido conjuntivo bastante denso; más abajo y a un lado de la envoltura (el hombro) por un área celular que contiene una mezcla de macrófagos, fibras musculares lisas y linfocitos T; y por un núcleo necrótico más profundo que alberga una masa desorganizada de lípidos, grietas de colesterol, desechos celulares, células espumosas cargadas de lípidos, fibrina, un trombo en diversas fases de organización, y otras proteínas del plasma. El material lipídico es esencialmente colesterol y ésteres de colesterol. Las células espumosas derivan principalmente de los monocitos sanguíneos, que se convierten en macrófagos, pero las fibras musculares lisas también pueden acumular lípidos hasta convertirse en células espumosas. En la periferia de las lesiones suele haber signos de neovascularización (Schoen y Cotran, 2000).

Las variaciones que muestran los rasgos histológicos de las placas dependen del número relativo de células musculares lisas y de macrófagos, y de la cantidad y distribución del colágeno y los lípidos. Los ateromas típicos contienen bastante cantidad de lípidos. En cambio, muchas de las llamadas placas fibrosas están formadas en su mayor parte por fibras musculares lisas y tejido fibroso. En la aterosclerosis avanzada, el ateroma adiposo puede convertirse en una cicatriz fibrosa (Schoen y Cotran, 2000).

La lesión complicada de la aterosclerosis es la que mayor importancia clínica tiene, y se puede caracterizar por algunos cambios, en donde se incluyen (Schoen y Cotran, 2000):

- la calcificación en focos dispersos o masiva (Mintz y col., 1997 y Rumberger y col., 1996);
- rotura focal, ulceración macroscópica, o ambas lesiones. Pueden dejar al descubierto sustancias de gran poder trombogénico que favorecen la formación de coágulos o la liberación a la luz vascular (embolia) de desechos que producen microembolias (émbolos de colesterol o ateroémbolos);
- hemorragia dentro de la placa, causada por la rotura de la envoltura fibrosa o de los capilares de paredes delgadas que riegan la placa;
- trombosis, complicación más temida que suele producirse en las lesiones dislaceradas (que han sufrido rotura, ulceración, erosión o hemorragia);
- dilatación aneurismática, sobretudo en los grandes vasos y producida por una debilidad de la pared arterial cuando la capa media sufre una considerable atrofia con pérdida de tejido elástico.

Las estrías grasas no son lesiones significativamente elevadas y no producen alteraciones del riego sanguíneo; sin embargo, pueden ser precursoras de las placas ateroscleróticas, que son mucho más nocivas. Las estrías comienzan por minúsculos depósitos planos amarillos (puntos grasos) que al confluir forman estrías alargadas. Las estrías grasas contienen células espumosas llenas de lípidos, linfocitos T y lípidos extracelulares en menor cantidad que las placas (Schoen y Cotran, 2000).

Las estrías grasas empiezan a formarse en humanos jóvenes y pueden aparecer en los mismos sitios anatómicos que más adelante están predispuestos al desarrollo de las placas (Berenson y col., 1992). Luego, su

número puede disminuir conforme las placas ateroscleróticas se vuelven más prevalentes. La relación entre estrías grasas y placas ateroscleróticas es compleja; las estrías están relacionadas con los factores de riesgo de la aterosclerosis que se conocen en el adulto, especialmente con las concentraciones séricas del colesterol de las lipoproteínas. Algunas pruebas experimentales apoyan la idea de que las estrías grasas acaban por formar placas. Sin embargo, es frecuente que las estrías aparezcan en zonas de los vasos que no son especialmente susceptibles al desarrollo de ateromas en fases posteriores de la vida. Por tanto, aunque las estrías grasas pueden ser predecesoras de las placas, no todas ellas están destinadas a convertirse en placas fibrosas o en lesiones más avanzadas (Schoen y Cotran, 2000).

4.4.3 Clasificación de las lesiones ateroscleróticas

No existe una descripción o método estandarizado de clasificación para las lesiones ateroscleróticas en perros, por lo cual se toma la clasificación de la American Heart Association (AHA) que divide a las lesiones ateroscleróticas humanas en seis formas, empezando por la de células espumosas aisladas (puntos grasos) y siguiendo por las estrías grasas, ateromas y fibroateromas, hasta terminar en las lesiones complicadas (Stary y col., 1995):

- lesión tipo I (inicial);
- lesión tipo II (estría grasa);
- lesión tipo III (intermedia);
- lesión tipo IV (ateroma);
- lesión tipo V (fibroateroma);
- lesión tipo VI (complicada).

4.4.3.1 Lesión tipo I: inicial

Son lesiones microscópicas, las primeras y más pequeñas alteraciones, y no aumentan el espesor de la pared arterial; constan de depósitos de lípidos en la íntima y de reacciones asociadas de los macrófagos. Las alteraciones histológicas de la íntima coronaria consisten en pequeños grupos aislados de macrófagos, sencillos o con gotitas de lípidos (células espumosas). Se ha comprobado que estas células se acumulan con preferencia en regiones de la íntima con endurecimiento adaptativo (Fuster y col., 1997). La acumulación de macrófagos simples y de células espumosas en la íntima arterial representa también la alteración celular inicial en los animales de laboratorio convertidos en hipercolesterolémicos. La acumulación de células espumosas en la íntima va asociada o precedida por una mayor adherencia de los monocitos al endotelio, en particular sobre regiones de la íntima con tendencia a la aterosclerosis (Gerrity, 1981, Lewis y col., 1985, citados por Fuster y col., 1997). Datos procedentes de animales de laboratorio indican que el aumento de macrófagos en la íntima y la formación de células espumosas son secuelas y marcadores celulares de acumulaciones patológicas de lipoproteínas de baja densidad en esas mismas localizaciones (Schwenke y Carew, 1989, citados por Fuster y col., 1997).

4.4.3.2 Lesión tipo II: estría grasa

Este tipo de lesiones incluye todas aquellas lesiones conocidas como estrías grasas (ver fotografías 2 y 3); se ven en la superficie interna de las arterias en forma de parches planos de color amarillo (Fuster y col., 1997).

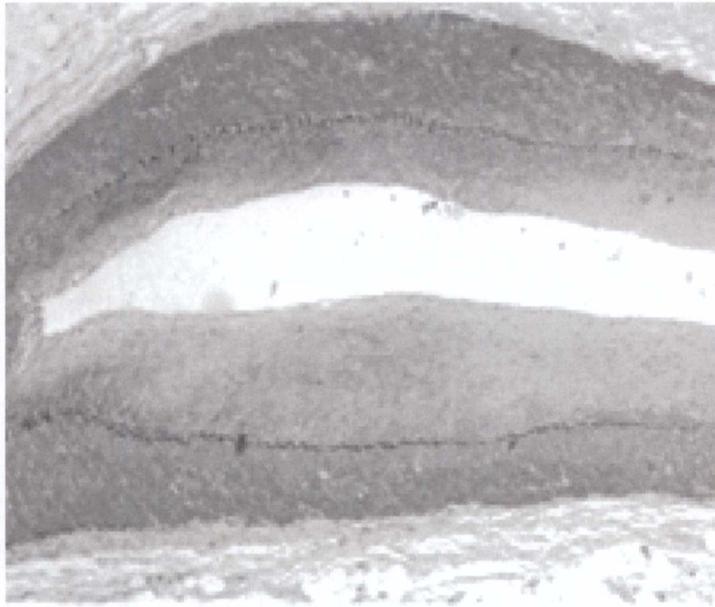
Estas lesiones iniciales suelen localizarse en algunas regiones específicas de las arterias donde el flujo sanguíneo sufre modificaciones, como bifurcaciones, trifurcaciones y curvaturas. Vistas al microscopio están formadas por células llenas de vacuolas de grasa, unas son macrófagos y otras son células musculares lisas (CML); en general se les conoce con el nombre de células espumosas (ver fotografía 3). Esta lesión generalmente no protruye hacia la luz arterial y si lo hace es muy discretamente; su consistencia es muy blanda y no altera de manera importante la elasticidad, la flexibilidad, ni la distensibilidad de la pared, por lo tanto no modifica el flujo sanguíneo (Fernández-Britto, 1998).

Este tipo de lesiones pueden aumentar el espesor de la íntima en menos de 1mm y no ocluye el flujo de la sangre arterial en modo alguno. Microscópicamente, las lesiones tipo II consisten en primer lugar en células espumosas estratificadas en capas adyacentes más que en grupos aislados de pocas células (Fuster y col., 1997). Las células del músculo liso de la íntima también contienen, al igual que los macrófagos, gotitas de lípidos (ver fotografía 3). Se han identificado linfocitos T en el tipo II, pero son menos numerosos que los macrófagos (Munro y col., 1987, y Katsuda y col., 1992, citados por Fuster y col., 1997). En los animales de laboratorio, el metabolismo de las células espumosas, endoteliales y de músculo liso está aumentado en las estrías grasas producidas en forma experimental (Fuster y col., 1997).

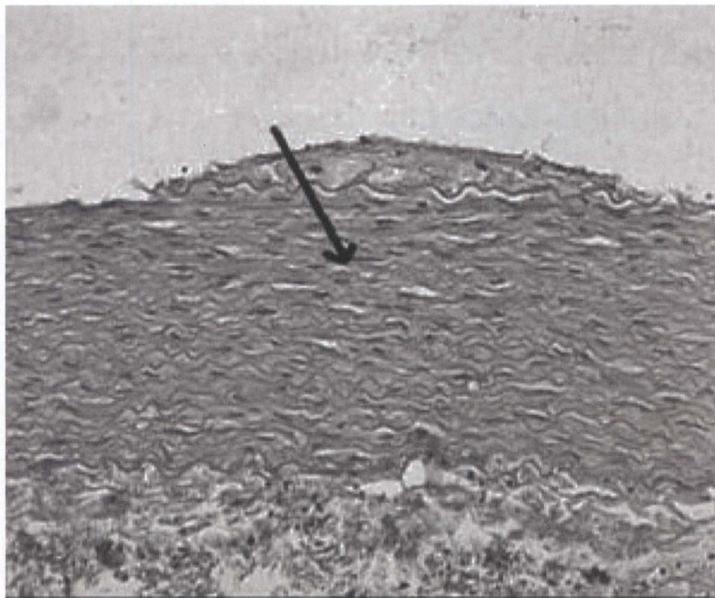
La mayoría de los lípidos de las lesiones de tipo II están en las células. La proporción de macrófagos y células de músculo liso que contienen gotitas de lípidos varía, pero en la mayoría de estas lesiones casi todo el lípido está en las células espumosas. Desde el punto de vista químico, los lípidos de las lesiones tipo II consisten sobre todo en colesterol éster, colesterol y fosfolípidos. Los principales ácidos grasos con colesterol éster son el colesteril oleato y el colesteril linoleato (Katz y col., 1976, y Smith y col., 1976, citados por Fuster y col., 1997).

El que una lesión tipo II se desarrolle o no, viene en gran parte determinado por las fuerzas mecánicas que actúan sobre una zona en particular de la pared vascular. Las fuerzas mecánicas del fluido, que son distintas en algunas bifurcaciones arteriales, aumentan el flujo de lipoproteínas al interior de la íntima en esos sitios. Cuando las lipoproteínas aterogénicas y la presión arterial exceden el umbral en un individuo, el lípido se acumula en la íntima, y más en esos sitios que en otros lugares de las arterias, y desarrollan lesiones de tipo II. Las mismas fuerzas mecánicas causan el endurecimiento adaptativo autolimitado de la íntima que se encuentra en esos sitios sean cuales sean los niveles de lipoproteínas. Por ello, las lesiones de tipo II se localizan junto con endurecimientos focales de la íntima (Fuster y col., 1997).

En seres humanos adultos con niveles muy altos de lipoproteínas aterogénicas en plasma, las lesiones de tipo II también pasan rápidamente a tipos avanzados fuera de las localizaciones con tendencia a la progresión (Fuster y col., 1997).



Fotografía 2: lesión tipo II (estría grasa) de la AHA. Imagen histológica (tinción de Movat; aumento original 25x) de la arteria descendente anterior de una mujer de 51 años, fallecida por un accidente cerebrovascular hemorrágico; se observa hiperplasia miofibroblástica y fibrosis intimal (Gurfinkel y col., 2009).



Fotografía 3: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 200X) de la aorta abdominal de un conejo, evidenciando una lesión tipo II. Se observan estrías lipídicas (flecha) y células espumosas (Torres y col., 2007).

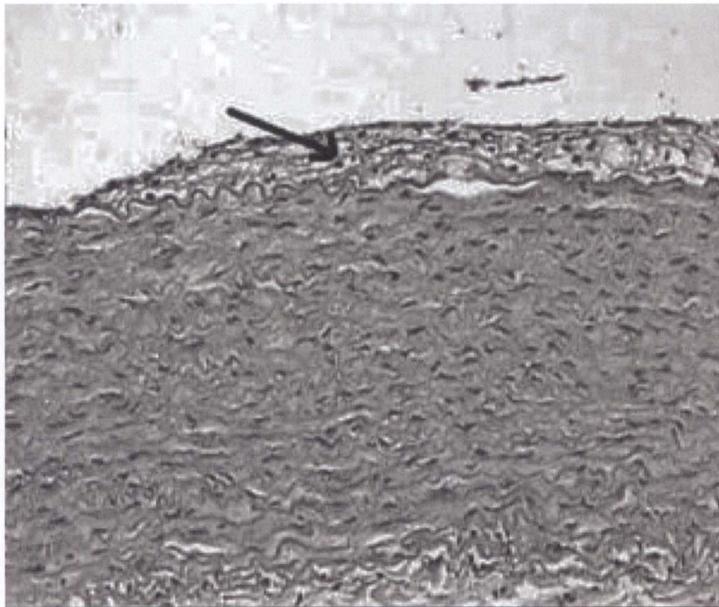
4.4.3.3 Lesión tipo III: intermedia

La lesión tipo III forma, histológicamente, el puente entre las lesiones mínimas y las avanzadas, y se conoce como lesión intermedia (Stary, 1989, citado por Fuster y col., 1997). Las lesiones tipo III endurecen la íntima sólo ligeramente más que las de tipo II y no obstruyen el flujo sanguíneo. Microscópicamente se acumulan gotitas y partículas de lípidos extracelulares hasta el punto de formar múltiples depósitos separados pero no bien definidos de ese material entre las capas de células de músculo liso del endurecimiento adaptativo de la íntima

(ver fotografía 4), junto al cual se localizan normalmente las lesiones de tipo III (Fuster y col., 1997).

Las partículas extracelulares de lípidos son idénticas a las que se encuentran dispersas en algunas lesiones de tipo II, y a las que, en cantidades mayores, constituyen el núcleo de las lesiones avanzadas. Este lípido extracelular se acumula por debajo de las capas de células espumosas, sustituye a los proteoglucanos y las fibras que están normalmente presentes, y al incrementar la matriz extracelular, rechaza las células de músculo liso. Las colecciones de lípido extracelular que rompen la coherencia de algunas de las células estructurales de músculo liso de la íntima en una región circunscrita de ésta, constituyen una progresión más allá de una lesión de tipo II (Fuster y col., 1997). En este estadio no se ha desarrollado aún ninguna acumulación extensa (núcleo lipídico). Estudios de muchos casos indican que el núcleo lipídico de las lesiones avanzadas, se forma por aumento y confluencia de los depósitos separados que caracterizan a las lesiones de tipo III (Katz y col., 1976, y Small, 1988, citados por Fuster y col., 1997).

Las diferencias de ácidos grasos entre las lesiones de tipo II y las avanzadas se deben al incremento general de lípidos y el cambio de almacenamiento intracelular a otro predominantemente extracelular (Fuster y col., 1997).



Fotografía 4: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 200X) de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo III (intermedia), la cual se caracteriza por presentar células espumosas rodeadas de pequeñas gotas de lípidos extracelulares (flecha) en escasa cantidad. (Torres y col., 2007).

4.4.3.4 Lesión tipo IV: ateroma

En las lesiones de tipo IV conocidas como ateroma, una densa acumulación de lípidos extracelulares ocupa la íntima en uno de los segmentos de la arteria con endurecimiento adaptativo en donde se localiza, al menos al principio, este tipo (fotografía 5). La acumulación de lípido extracelular se conoce como núcleo lipídico. El tipo IV es el primer tipo lesional que se considera avanzado en esta clasificación histológica, debido a la rotura y desorganización de la estructura

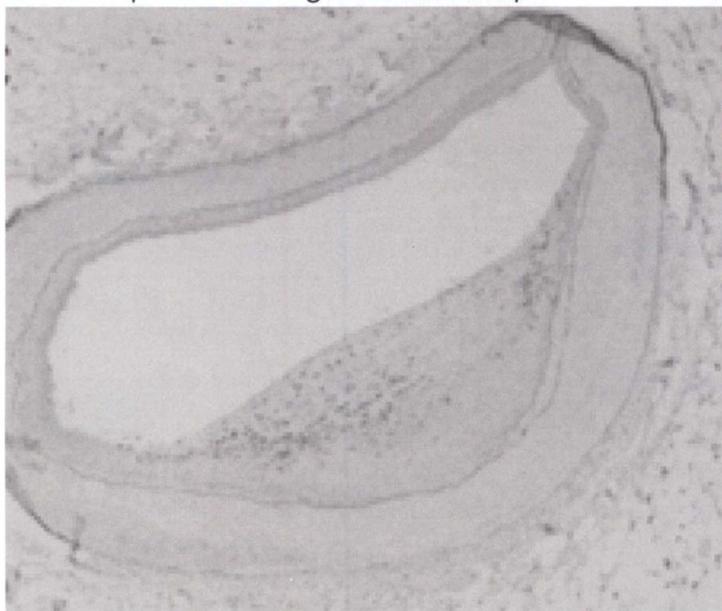
arterial causadas por la gran acumulación de lípidos extracelulares (Fuster y col., 1997).

La lesión de tipo IV corresponde a un aumento en forma de media luna en el espesor de la mitad de la pared opuesta al espolón divisor de corriente de una bifurcación (ver fotografía 5). El mayor espesor de la media luna se encuentra por lo general pasada la bifurcación (Fuster y col., 1997).

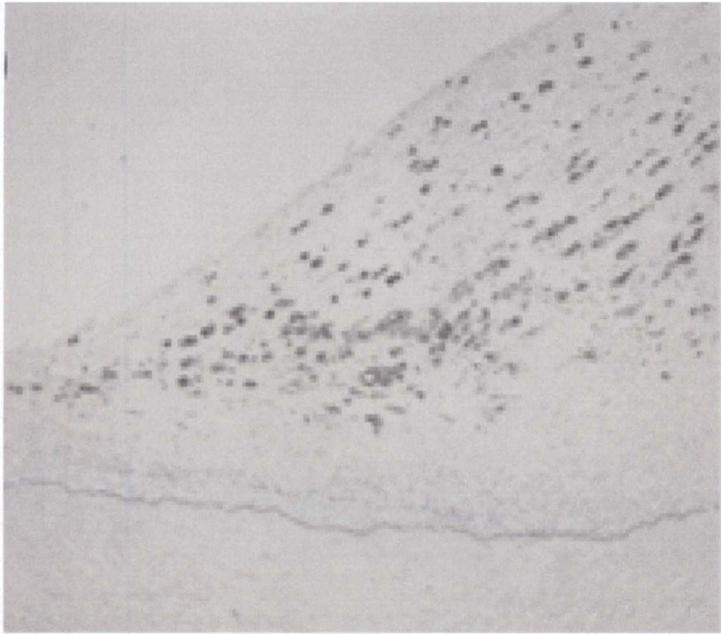
El núcleo característico se desarrolla a partir del aumento y confluencia de los depósitos de lípidos extracelulares que caracterizan a la lesión tipo III. El aumento de la concentración plasmática de lípidos da lugar a una insudación continua desde el plasma (Fuster y col., 1997). Las partículas heterogéneas de lípido extracelular pueden derivarse de células cargadas con lípidos, y esto viene apoyado por la observación de células espumosas muertas y desintegradas en los márgenes de los núcleos lipídicos (ver fotografía 7), por la extrusión de los residuos de gotitas lipídicas intracitoplasmáticas y por la semejanza entre las partículas lipídicas intra y extracelulares (Stary, 1990, Schmitz y Muller, 1991, y Ball y col., 1995, citados por Fuster y col., 1997).

El núcleo lipídico está en la parte profunda de la íntima, y las células de músculo liso de esta capa están dispersas por toda la región del núcleo lipídico, incluido sus márgenes (fotografía 7). Las células dispersas tienen cuerpos celulares adelgazados y alargados, y su membrana basal puede ser inhabitualmente gruesa (Fuster y col., 1997). La íntima que se encuentra entre el núcleo lipídico y la luz de la arteria contiene macrófagos y células de músculo liso con y sin inclusiones de gotitas de lípidos, linfocitos (Jonasson y col., 1986) y células cebadas (ver fotografía 6). La periferia del núcleo es también una región con densa concentración de macrófagos y linfocitos. El núcleo lipídico emerge antes de que se formen las capas de colágeno que

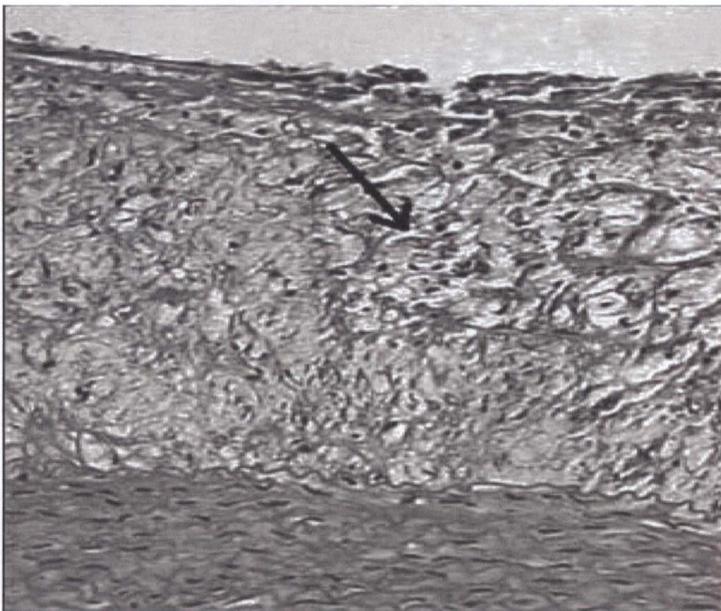
finalmente engrosarán notablemente la región por encima de ese núcleo. La capa de la íntima situada por encima del núcleo lipídico de las lesiones de tipo IV no debe ser tomada por las capas de colágeno que pueden desarrollarse a continuación sobre el núcleo lipídico. Esta estructura más tardía, si se desarrolla, recibe el nombre de lesión de tipo V (Fuster y col., 1997).



Fotografía 5: lesión tipo IV (ateroma) de la AHA. Imagen histológica (esta sección se incubó con anticuerpos monoclonales anti-CD68; aumento original 25x) de la arteria coronaria descendente anterior de una mujer de 47 años fallecida por un accidente cerebrovascular isquémico (Gurfinkel y col., 2009).



Fotografía 6: imagen histológica (aumento original 100x) correspondiente a la misma placa aterosclerótica de la figura anterior. Se observan los macrófagos con una magnificación mayor (Gurfinkel y col., 2009).



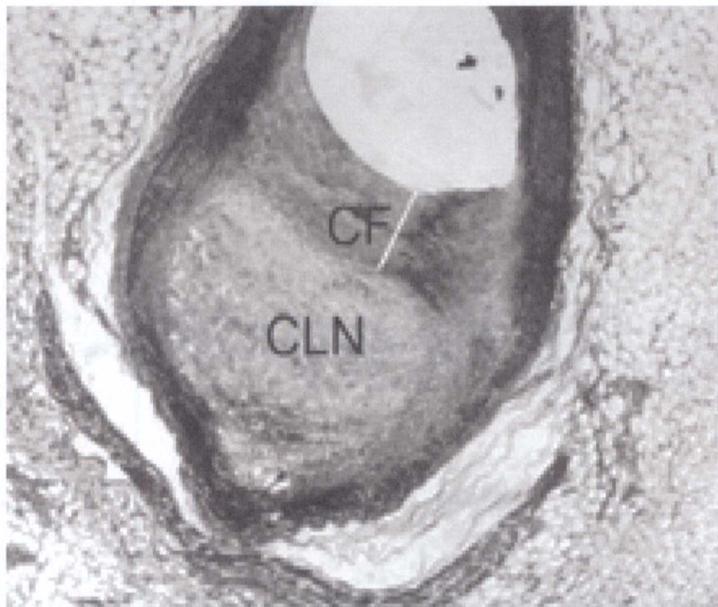
Fotografía 7: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100X) de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo IV. Se aprecia una densa acumulación de lípidos extracelulares y dentro de los macrófagos, que junto con las células del músculo liso proporcionan agregados de células espumosas (flecha) que se observan como rayos de grasa o focos lipídicos (Torres y col., 2007).

4.4.3.5 Lesión tipo V: fibroateroma

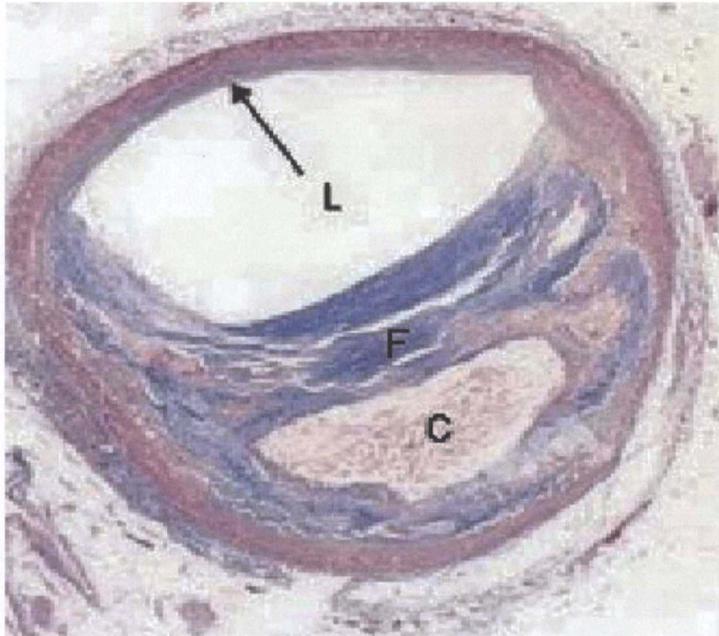
Las lesiones de tipo V se definen como aquellas en las que se añade una o varias capas de colágeno al tipo IV. Esta alteración recibe también el nombre de fibroateroma (fotografías 8, 9 y 10). Por lo general, el colágeno se sintetiza como reacción a la rotura celular y tisular que resulta de la acumulación de un núcleo de lípidos extracelular. Por tanto, la formación de un núcleo lipídico

(lesión tipo IV) precede a la formación de colágeno (lesión tipo V). Algunas capas gruesas de colágeno representan el estadio final de trombos superpuestos. Tales lesiones serían clasificadas como tipo VI si no hubiera desaparecido el trombo, o sus restos, por crecimiento de músculo liso dentro de él y por la formación de colágeno. Pese a las capas de células de músculo liso y de la matriz extracelular recién formada, las lesiones de tipo V, como las de tipo IV, pueden romperse (o romperse de nuevo) y formar (o formar de nuevo) trombos murales. Esto es, pueden cambiar una y otra vez a lesiones de tipo VI. Múltiples episodios pueden dar lugar a lesiones de tipo V multiestratificadas y de esta forma, la arteria se vuelve cada vez más estrecha (Fuster y col., 1997).

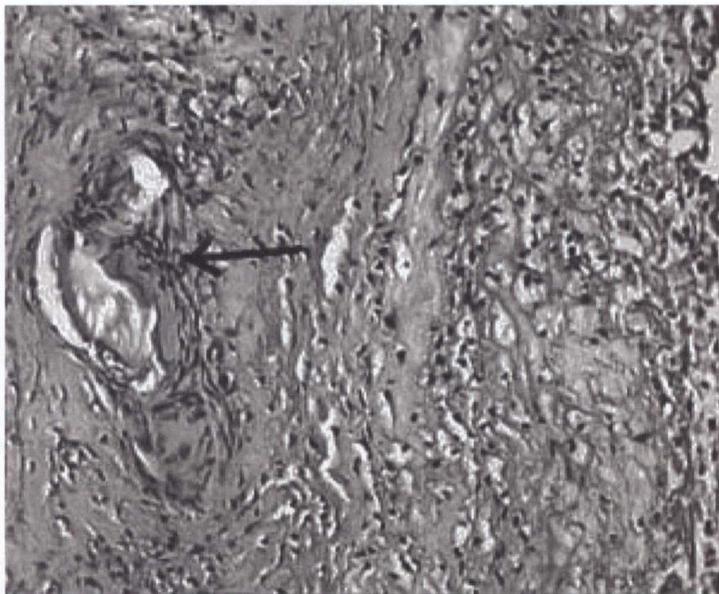
El colágeno de las lesiones de tipo V se forma principalmente entre la luz y el núcleo lipídico (ver fotografías 8 y 9), y reemplaza a la matriz rica en proteoglucanos preexistente. El colágeno se convierte en el factor predominante, y es el responsable del espesor de la lesión más que la acumulación subyacente de lípidos. También pueden acumularse lípidos en la media adyacente, y las células de músculo liso de la media pueden quedar desordenadas por ese motivo (ver fotografía 10). La adventicia adyacente puede contener cúmulos de linfocitos, macrófagos y células espumosas de origen macrofágico (Fuster y col., 1997).



Fotografía 8: lesión tipo V (fibroateroma) de la AHA. Imagen histológica (tinción de Movat; aumento original 25x) de la arteria circunfleja de una mujer de 50 años fallecida por un accidente cerebrovascular hemorrágico. Placa aterosclerótica fibrolipídica. La línea muestra el espesor de la capa fibrosa entre la luz y el núcleo lipídico. CLN: Centro lipídico-necrótico. CF: Cubierta fibrosa. (Gurfinkel y col., 2009).



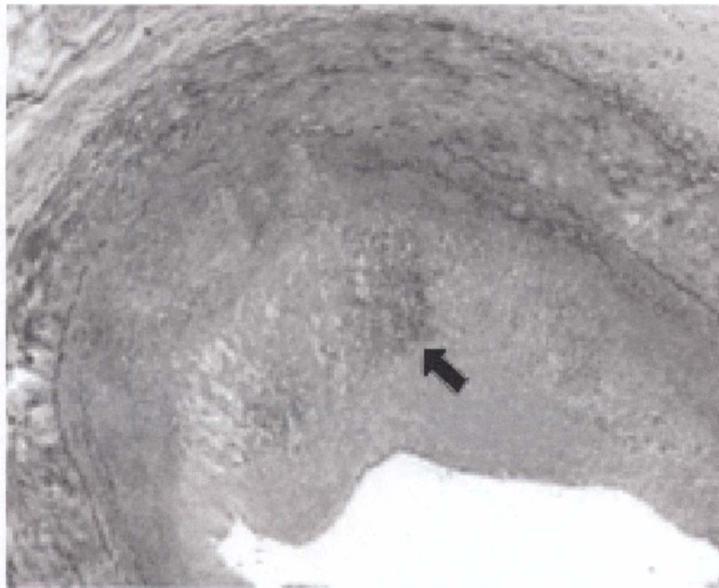
Fotografía 9: imagen histológica donde se observa la arquitectura general de una lesión tipo V. Se muestra una envoltura fibrosa (F) y un núcleo central de lípidos (C) con las típicas hendiduras de colesterol; hay un estrechamiento moderado de la luz (L). Se puede observar la porción de la pared (flecha) que no tiene placa (Schoen y Cotran, 2000).



Fotografía 10: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100X) de la aorta abdominal de un conejo donde se observa una lesión tipo V (fibroateroma). Se visualiza una proliferación celular considerable y formación de tejido fibroconectivo (flecha), para originar las placas fibrosas o fibroateroma (Torres y col., 2007).

4.4.3.6 Lesión tipo VI: complicada

La morbilidad y mortalidad de la aterosclerosis deriva en gran parte de lesiones clasificadas como tipo VI, y que reciben el nombre de complicadas (ver fotografía 11).



Fotografía 11: lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica (Tricrómico de Masson; aumento original 25X) de la arteria coronaria derecha de una mujer de 46 años, fallecida por un accidente cerebrovascular hemorrágico. La flecha muestra una hemorragia intraplaca (Gurfinkel y col., 2009).

Este tipo se caracteriza por presentar roturas de la superficie de la lesión, en forma de fisuras, erosiones o ulceraciones, hematomas o hemorragias, y depósitos trombóticos. Aunque la mayoría de las lesiones de tipo VI tienen la morfología subyacente del tipo IV o V, a veces se encuentran uno o más de los componentes adicionales que complican la situación superpuestos a una lesión tipo II o incluso sobre una íntima que no presenta acumulación perceptible de lípidos. Los procesos superpuestos aceleran la progresión, al menos de forma temporal, más allá del ritmo gradual de crecimiento de las lesiones de tipo IV y V (Fuster y col., 1997).

Las roturas incluyen fisuras, erosiones y ulceraciones (Constantinides, 1966, citado por Fuster y col., 1997). Las ulceraciones pueden ser extensas y exponer parte del contenido de un núcleo lipídico. Las fisuras pueden presentarse en los márgenes de una lesión en zonas que generalmente contienen muchos macrófagos y a menudo células espumosas. Los factores que contribuyen a causar la fisuración son la presencia de tipos celulares específicos y la debilidad estructural de la lesión de la íntima en el punto de rotura, modificaciones de las fuerzas en cizalla y de tensión a las que se ve expuesta la lesión, espasmos y la liberación de sustancias tóxicas y de enzimas proteolíticas de los macrófagos de la lesión (Steinberg y Witzum, 1990, citados por Fuster y col., 1997). La consecuencia de una rotura superficial es la acumulación de sangre dentro de la lesión y la formación de un trombo en la superficie (Fuster y col., 1997).

4.4.4 Factores de riesgo de la aterosclerosis en humanos

Los factores de riesgo para la aterosclerosis humana se han descubierto gracias a varios estudios prospectivos realizados en grupos de población humana bien caracterizados, destacando entre ellos el Framingham Heart Study (ver cuadro 1). Estos factores de riesgo incluyen a los constitucionales, y por tanto inmutables, mientras que otros son adquiridos y posiblemente

capaces de ser modificados (Kannel y Wilson, 1995, y Neaton y Wentworth, 1992).

Cuadro 1: factores de riesgo de la aterosclerosis humana.

CONSTITUCIONALES (no modificables)	Aumento de la edad Sexo masculino Antecedentes familiares Alteraciones genéticas
ADQUIRIDOS (posiblemente modificables)	Hiperlipemia Hipertensión arterial Tabaquismo Diabetes Obesidad Inactividad física Déficit posmenopáusico de estrógenos
MENORES O DUDOSOS (no cuantificados)	Estrés (personalidad <i>tipo A</i>) Homocisteína Dieta rica en carbohidratos Consumo de alcohol Lipoproteína(s) Consumo de grasa <i>trans</i> no saturada artificialmente hidrogenada <i>Chlamydia pneumoniae</i>

Desde un punto de vista práctico, resulta útil agrupar en dos categorías los factores de riesgo cardiovascular en medicina humana encontrados en estos estudios: 1) los que pueden modificarse con cambios de los hábitos o con medicación y 2) los que no pueden modificarse. La rotundidad de las pruebas que sustentan los distintos factores de riesgo es variable. Por ejemplo, la hipercolesterolemia y la hipertensión son factores que predicen el riesgo cardiovascular en individuos humanos, pero otros, llamados factores de riesgo no tradicionales, como los niveles de homocisteína, lipoproteína(a) o la infección, siguen siendo motivo de controversia (Libby, 2002b).

4.4.5 Factores predisponentes de lesiones vasculares en perros

Hasta donde conocemos, no existe una clasificación estandarizada para los factores predisponentes de aterosclerosis canina. Sin embargo, existen algunos factores predisponentes implicados en el desarrollo de lesiones vasculares en perros.

4.4.5.1 Edad

La edad avanzada se ha descrito como un factor predisponente para el desarrollo de arterioesclerosis en perros (Kagawa y col., 1998). Con el envejecimiento, los cambios en el sistema arterial asociados con la rigidez vascular y la reducción de la regulación vaso-motora periférica pueden afectar profundamente la capacidad del organismo para aumentar el gasto cardíaco, regular la presión arterial sistémica y responder adecuadamente a las elevaciones en el ritmo cardíaco (Kass, 2002).

En estudios realizados con modelos animales, se encontró que en ratas gerontes, se da una mayor predisposición a las modificaciones oxidativas de las LDL y VLDL (Depboylu y col., 2007).

En otro estudio se demostró que la distensibilidad arterial sistémica se reduce con la edad en los perros, y este hallazgo se extiende a los animales sin enfermedades relacionadas con la edad que ocurren con frecuencia en seres humanos mayores de edad (Haidet y col., 1996).

En otra investigación (el único estudio de campo de aterosclerosis coronaria canina que conocemos) se diagnosticaron lesiones ateroscleróticas en las arterias coronarias en la necropsia de 21 perros en un período de 14 años. Nueve perros murieron y doce fueron sacrificados a causa de complicaciones asociadas con la enfermedad; la edad media de los individuos muestreados fue de 8,5 +/-0,5 años (Liu y col., 1986). Las lesiones no fueron clasificadas por su grado de avance.

4.4.5.2 Sexo

La aterosclerosis humana es más frecuente en el hombre que en la mujer premenopáusica, en la cual la presencia de aterosclerosis es infrecuente o leve; tras la menopausia, los valores de HDL disminuyen y el riesgo coronario femenino se acelera (Libby, 2002b). El sexo masculino también se incluye como un factor predisponente en el desarrollo de aterosclerosis en perros (Kagawa y col., 1998).

- **Estrógenos:** los estrógenos endógenos juegan un papel importante en la fisiología y la fisiopatología vascular, con potenciales implicaciones terapéuticas. El 1β -estradiol tiene acciones ateroprotectivas (Billon-Galés y col., 2009). No existe prácticamente ningún estudio sobre el sistema cardiovascular de la perra ovariectomizada. Además, el papel de los estrógenos en la fisiología cardiovascular es difícil de interpretar debido a la limitación de dos ciclos estrales por año en esta especie (Bellino, 2000). En un estudio se comprobó el efecto beneficioso de los estrógenos sobre el engrosamiento de la íntima en la arteria femoral de ratas y sobre la migración y proliferación de las células musculares lisas en la íntima arterial. El engrosamiento de la íntima fue significativamente mayor en machos que en hembras control, pero en hembras ovariectomizadas este engrosamiento se incrementó hasta el nivel de los machos. No hubo diferencia en la presión arterial y en los lípidos séricos, lo que sugiere que los estrógenos actúan directamente sobre la arteria e inhiben el engrosamiento de la íntima. También se comprobó que el 17β -estradiol inhibe la migración de células musculares lisas de rata en cultivo (Akishita y col., 1997). En otra investigación realizada con ovejas se observó que el 1β -estradiol aumentó el flujo de sangre en la arteria coronaria, el gasto cardíaco y la frecuencia cardíaca; y a su vez disminuyeron la resistencia vascular coronaria y la resistencia vascular sistémica; la presión arterial no sufrió cambios significativos (Lang y col., 1997). También se ha estudiado *in vivo* el efecto de los estrógenos en la arteria coronaria canina; en este caso se comprobó que los estrógenos indujeron un incremento significativo en la sección transversal del área coronaria, en la velocidad de flujo volumétrico y en el flujo sanguíneo. Estos mecanismos son independientes del endotelio vascular y no está

mediado por el receptor de estrógenos intracelular clásico (Sudhir y col., 1995).

- **Andrógenos:** con respecto a las hormonas sexuales masculinas, los resultados de un estudio en conejos demostraron que los andrógenos endógenos circulantes se reducen de forma significativa con la castración y que esta condición en presencia de hipercolesterolemia inducida por una dieta aterogénica, favorece una mayor formación de placa aterosclerótica en la aorta torácica y una reducción severa de la vasodilatación arterial dependiente del endotelio en comparación con conejos no castrados y sometidos a la misma dieta, lo que sugiere que la testosterona endógena podría tener un fuerte efecto preventivo sobre la aterosclerosis. La castración de los conejos no afectó los niveles de colesterol total en forma significativa ni perturbó de manera adversa la formación de placa ni la función vascular en conejos con dieta normal. Por primera vez se demostró que la castración *per se* resulta en un incremento del 100% en la presencia de aterosclerosis aórtica en conejos, lo que sugirió que la testosterona endógena podría tener un efecto preventivo en el desarrollo de aterosclerosis (Echeverri y col., 2007). Estudios clínicos (Yarnell y col., 1993, y Mitchell y col., 1994) y experimentales (Barrett-Connor y Goodman-Gruen, 1995, y Grady y col., 1992) sugieren que los andrógenos tienen un efecto neutral o benéfico sobre la génesis de la aterosclerosis; igualmente en otro estudio, se sostiene la hipótesis de que los andrógenos endógenos tienen un efecto preventivo, similar al efecto de los estrógenos (Alexandersen y col., 1999). Estudios realizados *in vivo* (Chou y col., 1996, y Murphy y Khalil, 1999) e *in vitro* (Crews y Khalil, 1999, y English y col., 2002) en animales demostraron que la testosterona actúa como un vasodilatador directo en arterias musculares y elásticas en varias especies, incluyendo conejos, perros, cerdos y ratas.

4.4.5.3 Genética

Lo más probable es que la predisposición familiar hacia la aterosclerosis y la cardiopatía isquémica sea poligénica. En humanos, algunas familias muestran mayor tendencia a presentar aterosclerosis coronaria e infarto de miocardio a temprana edad. Esto puede depender de la coincidencia con otros factores de riesgo, como la hipertensión o la diabetes, o con alteraciones hereditarias como ocurre en la hipercolesterolemia familiar.

Las enfermedades cardiovasculares tienen un fenotipo complejo con alta heredabilidad, pero con la interacción de múltiples factores genéticos y ambientales. La heredabilidad de la aterosclerosis ha sido recientemente estudiada en diferentes poblaciones con la medición del espesor íntima-media de la arteria carótida; estos resultados también demuestran que estas mediciones están fuertemente influidas por los determinantes genéticos de heredabilidad. Una proporción importante de la contribución genética está relacionada con factores de riesgo tradicionales de la enfermedad cardiovascular, en especial la presión arterial y las concentraciones de lípidos plasmáticos (Civeira y col., 2008).

La aterosclerosis es una enfermedad multifactorial causada por la interacción de factores de riesgo establecidos con múltiples genes predisponentes que regulan los procesos relacionados con el desarrollo de esta enfermedad. Los

polimorfismos alélicos de los distintos genes aumentan el riesgo de aterosclerosis que ocurren en la población general, pero sólo las interacciones y combinaciones adecuadas entre los genes, el ambiente y la nutrición pueden conducir a la enfermedad (Giacconi y col., 2008).

Las pruebas también se están recopilando en el papel crucial desempeñado por el fondo genético de susceptibilidad a la aterosclerosis y enfermedades cardiovasculares. De hecho, los polimorfismos de los nucleótidos únicos situados en las regiones promotoras de citoquinas pro-inflamatorias, que afectan a la producción de citoquinas, pueden predisponer a la progresión de la aterosclerosis (Bennermo y col., 2004).

4.4.5.4 Hiperlipidemia

El término hiperlipidemia se aplica a aquellos individuos que presentan una elevada concentración de colesterol y/o triglicéridos en la sangre. Si bien en medicina veterinaria no se han definido estrictamente valores estandarizados para estos parámetros, la mayoría de los laboratorios informan que el valor normal para el colesterol sérico total oscila en el rango de 120 a 270 mg/dL para el perro; se asume que estos valores son válidos sólo para perros adultos en ayuno de 12 horas. Aquellos animales cuyos valores excedan el límite superior normal son considerados hiperlipidémicos. Sin embargo, es importante destacar que elevaciones anormales de lípidos sanguíneos no necesariamente reflejan un riesgo de salud significativo para el perro afectado. La hiperlipidemia puede representar una señal temprana de una enfermedad subyacente que afecte el metabolismo de los lípidos y de las lipoproteínas, como por ejemplo diabetes mellitus, hipotiroidismo (Ford, 1995) o hiperadrenocorticismo (Whitney, 1992).

Las lipoproteínas plasmáticas difieren en sus características físicas y químicas tales como tamaño, densidad y composición. Las lipoproteínas caninas se pueden dividir en función de su densidad hidratada en cuatro clases principales (Bauer, 1992):

- quilomicrones,
- lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL),
- lipoproteínas de baja densidad (LDL),
- lipoproteínas de alta densidad (HDL).

Aunque los perros parecen ser resistentes a la aterosclerosis debido a la composición y metabolismo de sus lipoproteínas, se ha informado el desarrollo de aterosclerosis canina en estudios experimentales y clínicos (Mahley y Weisgraber, 1974, Liu y col., 1986, Kagawa y col., 1998, y Hess y col., 2003). La aterosclerosis espontánea ha sido reportada en perros, principalmente en asociación con hipercolesterolemia secundaria, debido a endocrinopatías (Hess y col., 2003). En un estudio, el 60% de 30 perros con aterosclerosis tenía hipotiroidismo y el 20% tenía diabetes mellitus (Hess y col., 2003).

En otro estudio con perros Beagle de 24 +/-6 meses de edad, alimentados con una dieta semi-sintética que contenía aceite hidrogenado de coco y colesterol (dieta SS) durante 12 meses, se desarrolló una marcada hiperlipidemia y aterosclerosis severa. La dieta SS produjo una marcada elevación de colesterol, triglicéridos, fosfolípidos y beta-lipoproteínas y una aterosclerosis severa en las arterias grandes y pequeñas. Las lesiones grasas en la capa íntima arterial estuvieron siempre presentes en la aorta abdominal y muchas de sus ramas, así como en las arterias coronarias grandes y pequeñas. Este

estudio demostró que el grado de aterosclerosis canina está directamente relacionado con los niveles circulantes de lípidos (Nandan y col., 1975).

4.4.5.5 Obesidad

La obesidad se define como una acumulación de cantidades excesivas de tejido adiposo en el organismo, y es el desorden nutricional más común en los animales de compañía. La obesidad es generalmente el resultado de una ingesta dietética excesiva o bien de una inadecuada utilización de la energía, lo que provoca un estado de balance energético positivo (German, 2006). Además de la dieta, la obesidad en perros también se atribuye a otros factores, incluyendo la predisposición genética, manejo reproductivo y actividad física (Bland y col., 2010). La obesidad no es sólo la acumulación de grandes cantidades de tejido adiposo, y también se asocia con importantes cambios metabólicos y hormonales en el organismo (Zoran, 2010).

Numerosos factores pueden predisponer a un individuo a la obesidad como la genética, la cantidad de actividad física, y el contenido energético de la dieta. La principal preocupación médica de la obesidad se relaciona con las asociaciones de muchas enfermedades que acompañan a la adiposidad. Numerosos estudios demostraron que la obesidad puede tener efectos perjudiciales sobre la salud y la longevidad de los perros. Los problemas a los que los animales obesos están predispuestos incluyen enfermedades cardiorrespiratorias, alteraciones en los perfiles de lípidos circulantes, enfermedades ortopédicas, diabetes mellitus, trastornos urinarios, trastornos reproductivos, enfermedades dermatológicas y complicaciones anestésicas (German, 2006).

Los perros son clasificados como con sobrepeso cuando su peso corporal es mayor al 15% por encima de su "peso corporal óptimo", y como obeso cuando su peso corporal supera el 30% del óptimo. Sin embargo, estos criterios no se han confirmado con estudios epidemiológicos rigurosos, y existen datos limitados sobre la naturaleza de un peso corporal óptimo (German, 2006). El aumento de triglicéridos en suero y / o las concentraciones de colesterol se han observado en perros obesos (Chikamune y col., 1995, Bailhache y col., 2003, y Jeusette y col., 2005). Los cambios más profundos se asocian con obesidad severa crónica (Jeusette y col., 2005). La pérdida de peso en perros obesos lleva a descensos significativos en las concentraciones de colesterol y triglicéridos en suero (Jeusette y col., 2005).

Existen datos que sugieren a la obesidad como un factor predisponente de aterosclerosis en perros (Kagawa y col, 1998). La obesidad también puede afectar la función cardíaca; el aumento del peso corporal puede resultar en efectos sobre el ritmo cardíaco y aumento de volumen del ventrículo izquierdo, la presión arterial y el volumen del plasma. El efecto de la obesidad en la hipertensión es motivo de controversia en los perros. Un estudio sugirió que la obesidad se asoció significativamente con la hipertensión, pero su efecto fue de poca importancia (Bodey y Mitchell, 1996). La obesidad también puede estar asociada con trombosis venosa portal (Van Winkle y Bruce, 1993) e hipoxia miocárdica (Baba y Arakawa, 1984).

4.4.5.6 Actividad física

La actividad física (AF) produce efectos beneficiosos sobre la oxidación lipídica, la hemostasia y la función endotelial, factores también directamente

involucrados en el desarrollo y progresión de la arteriosclerosis (Arquer y col., 2010). La práctica regular de AF produce efectos favorables sobre los factores de riesgo clásicos de las enfermedades cardiovasculares en humanos: mejora el perfil lipídico (Marrugat y col., 1996), disminuye la tensión arterial y previene la aparición de diabetes no insulino dependiente (Helmrich y col., 1991).

Los radicales libres (RL) son moléculas muy reactivas e inestables que se producen en las reacciones en que interviene el oxígeno (Ballester, 1996). Pueden alterar la estructura y función de varias moléculas del organismo. Tanto la práctica de AF aguda como la práctica regular influyen sobre la producción de RL, la actividad de los sistemas antioxidantes y modifican la susceptibilidad de las LDL a la oxidación.

Un dato que se desprende de algunos estudios es que en animales o personas entrenadas el aumento de RL observado luego de una AF es menor que en las sedentarias (Viinikka y col., 1984, y Kanter y col., 1993), sugiriendo la existencia de un efecto protector de la práctica regular de AF.

Ante la mayor producción de RL secundaria a la práctica de AF, el organismo puede adaptarse aumentando la capacidad antioxidante endógena. En estudios experimentales en animales se ha demostrado que la práctica regular de AF produce un aumento de la actividad de las enzimas antioxidantes endógenas (Alessio y Goldfarb, 1988, y Powers y col., 1993). Se ha observado que existe una relación directa entre la intensidad de la AF realizada y el aumento de los sistemas antioxidantes (Criswell y col., 1993).

Otro mecanismo por el cual la AF podría proteger a las LDL de la oxidación, sería disminuyendo su susceptibilidad a la misma (Arquer y col., 2010).

La práctica regular de AF produce una serie de efectos beneficiosos sobre el metabolismo oxidativo. Todo ello se traduce en una reducción de los niveles de LDL oxidada y de los marcadores sistémicos de inflamación (Arquer y col., 2010).

Con respecto a la inactividad física y la obesidad, los bajos niveles de actividad física debido a un corazón debilitado promueven el aumento de peso (Antic y col., 2003).

4.4.5.7 Convivencia con fumadores: el perro como fumador pasivo

El hábito de fumar y otras formas de consumo de tabaco son uno de los principales factores de riesgo de enfermedad cardiovascular en humanos. El efecto del tabaquismo sobre la salud cardiovascular es evidente incluso en los niveles más bajos de exposición. Sin embargo, los efectos perjudiciales del tabaco son reversibles; el riesgo cardiovascular disminuye sustancialmente en los primeros 2 años tras dejar de fumar (Erhardt, 2009). La exposición al humo ambiental del tabaco es también un factor de riesgo significativo para las enfermedades cardiovasculares en humanos.

El daño vascular causado por el tabaquismo incluye (Brunner y col., 2005):

- disminución del flujo sanguíneo coronario y del suministro de oxígeno del miocardio,
- efectos adversos sobre los lípidos (aumento en los niveles de LDL, disminución de los HDL y oxidación de las LDL),
- aumento de la presión arterial y resistencia a la insulina,
- disminución de la actividad del óxido nítrico endotelial.

El daño endotelial puede conducir a la reducción de la capacidad de dilatación y contracción vascular, los estados protrombóticos y proinflamatorios, así como

a la proliferación celular en la pared arterial (Barua y col., 2001). Además, el humo de cigarrillo causa daños morfológicos y bioquímicos para el endotelio, posiblemente como resultado de los RL en el humo (Pittilo, 2000). La exposición al humo de cigarrillo, tanto en activo como en pasivo aumenta la rigidez de la pared arterial, posiblemente como consecuencia de los cambios en la función endotelial (Stefanadis y col., 1997, y Mahmud y Feely, 2003).

El fumar aumenta la progresión de la aterosclerosis (Erhardt, 2009), con un pronunciado desarrollo de la placa en las arterias coronarias, carótidas y aorta abdominal (McGill Jr., 1988).

El colesterol oxidado de las LDL es un factor de riesgo para enfermedad coronaria y los estudios han demostrado que el consumo de tabaco se asocia con niveles altos de LDL oxidadas (Fagerberg y col., 2001, y Linna y col., 2008). La peroxidación lipídica es también mayor en los fumadores, dando lugar a una absorción más rápida de LDL por los macrófagos. Estos macrófagos posteriormente se convierten en células espumosas, las cuales son las células predominantes en una lesión aterosclerótica (Yanbaeva y col., 2007).

El hábito de fumar activa las plaquetas, aumentando el riesgo de formación de trombos y conduce a daños en el revestimiento de las arterias, facilitando el desarrollo de la aterosclerosis. Los niveles de activación de las plaquetas son mayores en fumadores que en no fumadores (Brunner y col. 2005). En perros, la activación de los niveles de catecolaminas, particularmente adrenalina, se produce en respuesta al aumento de los niveles sanguíneos de nicotina y se asocia con el desarrollo de trombosis (Folts y Bonebrake, 1982).

4.4.5.8 Hipertensión arterial

La hipertensión es un importante factor de riesgo para la mortalidad y morbilidad cardiovascular en humanos a través de sus efectos en órganos como el cerebro, el corazón y los riñones. Alteraciones estructurales en la microcirculación constituyen un vínculo importante entre la hipertensión y el daño del órgano diana (Cohuet y Struijker-Boudier, 2005).

Numerosos estudios epidemiológicos y experimentales han demostrado que el aumento de la presión arterial acelera la enfermedad aterosclerótica como enfermedad cardíaca coronaria en seres humanos (Hansson y Lundin, 1984).

La hipertensión causa una serie de alteraciones que incluyen cambios en la arquitectura de los vasos coronarios, trastornos en la reserva coronaria y en la capacidad de autorregulación de la microvasculatura coronaria durante la disminución de la presión de perfusión. La hipertensión crónica también puede alterar la regulación del control endotelial vascular (Harrison, 1993).

La hipertensión crónica aumenta el riesgo de infarto, y la morbilidad y mortalidad asociada a ella. Aunque la aterosclerosis acelerada es en parte responsable, también podrían contribuir otras anormalidades en la circulación coronaria asociada con la hipertensión, como la disminución de la capacidad vascular coronaria y la densidad capilar (Mueller y col., 1980).

La hipertensión y la obesidad interactúan en forma multifacética y sus resultados negativos incluyen enfermedades cardiovasculares. La obesidad per se puede promover la hipertensión. A su vez, las enfermedades cardiovasculares pueden predisponer a la obesidad e hipertensión. Los trastornos endoteliales, vasculares y renales pueden agravar la hipertensión.

La vasoconstricción y la retención de sodio parecen ser las piedras angulares del rompecabezas obesidad-hipertensión (Antic y col., 2003).

Aunque las características clínicas de la hipertensión en perros están escasamente estudiadas, sí es ampliamente conocido que existe la hipertensión arterial en esta especie.

4.4.5.9 Endocrinopatías hiperlipidemizantes

Hipotiroidismo. El riesgo cardiovascular en pacientes con hipotiroidismo está relacionado con un incremento en el riesgo de anomalías en la función cardiovascular y con un aumento del riesgo de aterosclerosis (Biondi y Klein, 2004).

Hace más de 30 años que se ha observado una asociación entre aterosclerosis e hipotiroidismo en los perros (Manning, 1979). En una familia de Beagles se desarrolló una aterosclerosis moderada a grave en las arterias coronarias y renales sin signos de oclusión. Se observó hiperlipidemia incluso cuando los perros recibían una dieta baja en grasas y colesterol. El tratamiento del hipotiroidismo con tiroxina se tradujo en un descenso del nivel de colesterol sérico. Sin embargo, a pesar de dicho descenso en el nivel de colesterol, los perros afectados no presentaron regresión de las lesiones ateroscleróticas (De Palma y col., 1977).

En otro caso se observó una aterosclerosis cerebrovascular asociada a hipotiroidismo en un Doberman de 6 años. En el momento de examinarlo, el perro presentaba convulsiones y ataxia, daba vueltas en círculo y mantenía la cabeza inclinada. La autopsia reveló una aterosclerosis generalizada severa y una necrosis cerebrocortical. La necrosis fue debida a una hipoxia tisular secundaria a la aterosclerosis cerebrovascular (Patterson y col., 1985).

En otro estudio se han descrito 21 casos de perros con aterosclerosis asociada al hipotiroidismo en un periodo de 14 años. Los signos clínicos incluían: letargia, anorexia, astenia, disnea, colapsos y vómitos. La necropsia mostró una fibrosis miocárdica y un infarto de miocardio. Las arterias afectadas fueron las coronarias miocárdicas, renales, carótidas, tiroideas, intestinales, pancreáticas, esplénicas, gástricas, prostáticas, cerebrales y mesentéricas. Todas ellas presentaban un aspecto engrosado y nodular, con una luz estrecha, paredes que contenían células espumosas (llenas de vacuolas) y material mineralizado (Liu y col., 1986). No hubo cuantificación de la prevalencia de la patología en una población canina, ni clasificación de las lesiones ateroscleróticas.

Diabetes mellitus. En el perro, la aterosclerosis también suele asociarse a la diabetes mellitus. La deficiencia de insulina puede provocar y exacerbar la hiperlipidemia en el perro. Esta forma de hiperlipidemia secundaria se caracteriza por hipertrigliceridemia. Ocasionalmente los perros diabéticos se presentan con una hipercolesterolemia significativa. Se asume que la falla en el clearance de quilomicrones ricos en triglicéridos (TG) en la diabetes es consecuencia de la activación insuficiente de la lipoproteinlipasa (y no la lipasa pancreática), que a su vez es consecuencia directa de la deficiencia de insulina. El estudio de los perfiles lipídicos de los perros afectados revela que hay un aumento tanto en quilomicrones como en VLDL. La administración de insulina exógena generalmente es suficiente para resolver la hiperlipidemia. Resulta interesante el

hecho de que parece haber una correlación entre la regulación diabética y el control de la hiperlipidemia (Ford, 1995).

Las funciones endoteliales y nerviosas autónomas que regulan la vasodilatación y la resistencia vascular periférica están alteradas en animales de experimentación y en pacientes humanos con diabetes mellitus, lo que resulta en una disminución en el flujo sanguíneo regional. Tal fenómeno patológico es causado por la actividad reducida de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS) y una menor disponibilidad de óxido nítrico (NO), una mayor producción de especies reactivas del oxígeno y de inhibidores de NOS endógena, y también un aumento de las acciones de los factores vasoconstrictores. La disponibilidad de NO a través de las enzimas NOS endotelial y neuronal desempeña un papel fundamental en la regulación del flujo sanguíneo a través de la vasodilatación y disminución de la resistencia vascular en diversos órganos y tejidos. El NO derivado de la NOS endógena también contribuye a la inhibición de la agregación plaquetaria, a la adherencia y proliferación de músculo liso y actúa como un agente antiaterosclerótico (Toda y col., 2010).

En un estudio se presentó un paciente canino Pomerania de 7 años para tratar una diabetes insulino dependiente mal controlada y una uveítis anterior, con depósito de lípidos en la cámara anterior del ojo; el perro presentaba hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia, con aumento de los quilomicrones y las lipoproteínas. Un año más tarde, el perro murió de una cetoacidosis. Se hallaron lesiones ateroscleróticas en la aorta abdominal, las arterias coronarias, renales y carótidas. La histología tiroidea era normal, sin signos de atrofia (Sottiaux, 1999).

Hiperadrenocorticismo. El síndrome de Cushing es mucho más frecuente en perros que en humanos. La sobreproducción de cortisol endógeno influye en el sistema cardiovascular, produciendo alteraciones vasculares y hemodinámicas (Smets y col., 2010).

La hipertensión inducida por la excesiva producción de glucocorticoides (GC) es un fenómeno complejo y es una complicación común del síndrome de Cushing, y en última instancia puede llevar a un aumento en el gasto cardíaco (Smets y col., 2010).

Los niveles altos de GC plasmático también se asocian con enfermedad vascular oclusiva en humanos, que se produce por los efectos en el músculo liso vascular, células endoteliales, macrófagos y miocardio, así como en su vínculo con la obesidad, hipertensión, dislipemia y en la resistencia a la insulina (Walker, 2007). La enfermedad vascular oclusiva es rara en pacientes caninos, y se ha observado que perros con aterosclerosis no son más propensos a tener hiperadrenocorticismo concurrente que los perros que no tienen aterosclerosis (Hess y col., 2003).

Tanto el hiperadrenocorticismo que ocurre naturalmente como el iatrogénico, han sido asociados con hiperlipidemia en perros (Whitney, 1992).

4.4.5.10 Infecciones

Chlamydia pneumoniae. Existen estudios que demuestran que *Chlamydia pneumoniae* puede inducir inflamación e iniciar y promover el desarrollo de lesiones vasculares en modelos animales de aterosclerosis. Dos de estos

modelos se estudiaron ampliamente: el primero involucra el uso de cadenas de ratones hiperlipémicos que espontáneamente desarrollan aterosclerosis como resultado de la hiperlipemia (ratón ApoE^{-/-}) o desarrollan lesiones cuando se les administra una dieta aterogénica (ratón con receptor LDL^{-/-}). Cuando cada ratón hiperlipémico recibió *C. pneumoniae* por vía intranasal, los ateromas fueron más pronunciados, y se pudieron recuperar microorganismos de las lesiones. En los animales no hiperlipémicos el microorganismo pudo infectar e inducir cambios inflamatorios en la aorta, pero los animales no desarrollaron cambios típicos sugestivos de ateromas avanzados. Estos resultados sugieren que *C. pneumoniae* podría tener tropismo por el tejido aterosclerótico y que la infección acelera el desarrollo de enfermedad en animales hiperlipémicos (Belland y col., 2004).

El proceso de la aterogénesis es modelado por infectar con clamidias a los animales sensibles (Likhoded y Martynova, 2000). *C. pneumoniae* puede infectar a varios tipos de células, incluyendo macrófagos, células del músculo liso arterial y células endoteliales vasculares, provocando la secreción de citocinas proinflamatorias y procoagulantes por las células endoteliales y la formación de células espumosas por los macrófagos (Mussa y col., 2006). *C. pneumoniae* puede inducir la formación de células espumosas a partir de los macrófagos humanos, debido a la absorción del excedente de colesterol de las LDL por los macrófagos. El lipopolisacárido de la *Chlamidia* es capaz de inducir la formación de células espumosas; por lo tanto, la *C. pneumoniae* es uno de los posibles agentes etiológicos de la aterosclerosis (Likhoded y Martynova, 2000).

Otro estudio ha tratado de detectar antígenos de *Chlamidia* en las lesiones ateroscleróticas de siete perros mediante la técnica de inmunohistoquímica. Las señales inmunopositivas a los anticuerpos fueron reconocidas en las lesiones ateroscleróticas de las arterias aorta, coronarias y esplénica de todos los perros. Estas señales positivas se encuentran en el citoplasma de los macrófagos espumosos infiltrados y en la matriz extracelular de las lesiones. En algunas lesiones, el citoplasma de las células endoteliales y células de músculo liso también dieron señales inmunopositivas. Mediante microscopía electrónica, se observaron clamidias en el citoplasma de las células endoteliales y de músculo liso. Las técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la detección de ADN de *C. pneumoniae* fueron realizadas en el bazo, arterias coronarias y renales en uno de los siete perros. Estos estudios confirman la presencia de *Chlamidia* viable en lesiones ateroscleróticas y apoyan la conclusión de que el organismo puede ser un factor activo en la patogénesis de la aterosclerosis canina, así como en la humana (Sako y col., 2002).

4.5 Importancia del estudio del espesor de las capas arteriales.

Es importante la medición de cada capa de un vaso para detectar aumentos en el espesor y comprobar el grado de lesión, especialmente en la capa íntima. Se utiliza como un marcador de enfermedad de la pared arterial.

La aterosclerosis se considera una forma de arterioesclerosis donde las partes internas de la pared arterial están engrosadas por depósitos (placas) que contienen colesterol, material lipídico (ateroma) y calcificación focal. Estas lesiones son engrosamientos focales asimétricos de la capa íntima de las arterias (Raines y col., 2009). Con el envejecimiento las paredes arteriales se

hacen más gruesas y rígidas. La medición del espesor íntima-media (IM) de la pared arterial ha mostrado un aumento en pacientes humanos con enfermedad arterial coronaria (García, 2009). En las primeras fases de la aterosclerosis en perros, las lesiones se producen sobre todo en la íntima, y en etapas avanzadas se producen a lo largo de la pared arterial (Zechmeister, 1971).

Es ampliamente aceptado que los individuos con enfermedad vascular arterioesclerótica aumentan la rigidez y el grosor íntima-media en comparación con sujetos sanos. En un estudio se sugiere que una mayor rigidez observada en sujetos con enfermedad vascular periférica es resultado del cambio en cantidad y calidad de la pared arterial. Se observó que los cambios en los índices de rigidez arterial eran mucho más altos que los cambios en el grosor íntima-media y diámetro. Estas observaciones preliminares pueden ser un indicio de que el índice de rigidez arterial es un marcador sensible temprano de la aterosclerosis (Claridge y col., 2009).

En la aterosclerosis las primeras lesiones visibles en la pared arterial se dan a nivel de la íntima, con la migración de células polimorfonucleares en un principio hasta la formación de la placa aterosclerótica en las últimas etapas del proceso. Todos estos procesos llevan a un engrosamiento de la capa íntima, lo cual puede ser evaluado cuanti y cualitativamente mediante la observación de la muestra histológica. Con esto, se puede determinar el grado de lesión que existe en esa muestra analizada.

En casos avanzados de lesiones arteriales, además de la capa íntima, también puede verse afectadas las capas media y/o adventicia. Estas capas pueden sufrir cambios en su estructura celular y espesor.

La medición del espesor de las capas que componen la pared arterial, especialmente la íntima, se justifica en que es un método de evaluación objetiva de la muestra histológica que brinda datos que nos permiten comparar diferentes muestras determinando el grado de engrosamiento en cada una de ellas. A su vez, nos permite evaluar los tipos celulares y otros elementos que componen las zonas engrosadas. Agrupando estos valores y datos obtenidos se pueden llegar a correlacionar con los diversos factores predisponentes de lesión vascular.

4.6 Infiltración grasa del miocardio e importancia patológica

El corazón está rodeado en forma frecuente por grasa, tanto la subepicárdica en el pericardio, así como la grasa mediastínica fuera del pericardio. Una gran cantidad de grasa mediastínica y pericárdica que cubre al corazón se ha correlacionado con una mayor incidencia de enfermedad arterial coronaria en humanos (Taguchi y col., 2001). La infiltración grasa del miocardio puede aparecer de forma aislada o en asociación con tejido fibroso (Burke y col., 1998). La grasa intramiocárdica se correlaciona con cardiomiopatías diversas, pero también está presente en cierto grado en el miocardio normal. La fisiopatología de la infiltración fibroadiposa todavía no se entiende completamente (Kellman y col., 2010).

La evidencia reciente sugiere que en humanos el tejido adiposo podría afectar mecánica y funcionalmente al corazón y su vasculatura, lo que posiblemente desempeña un papel en la adiposidad relacionada con la aterosclerosis (Iacobellis, 2008) y que la obesidad guarda relación con la infiltración grasa de diversos tejidos, incluido el miocardio.

Se han estudiado diversos factores predisponentes relacionados con la infiltración grasa del miocardio y sus posibles consecuencias patológicas en humanos. Se encontró una significativa correlación positiva entre el grado macroscópico de tejido adiposo subepicárdico y el grado microscópico de la infiltración grasa del miocardio; también se encontró una asociación entre la infiltración grasa con el grado de atrofia del miocardio, pero no hubo correlación entre el grado de infiltración grasa del miocardio y la edad, así como tampoco con las lesiones vasculares coronarias (Luo y col., 2010).

Además de la presencia de adipocitos que infiltran el miocardio, existe un creciente interés en la medición del contenido de lípidos intracelulares en los cardiomiocitos. La excesiva acumulación de lípidos en el miocardio es directamente cardiotóxico y es causa de un remodelado ventricular izquierdo y de cardiomiopatía dilatada (McGavock y col., 2006). El papel de la esteatosis cardíaca en las enfermedades del corazón está siendo estudiada en pacientes humanos con trastornos metabólicos, como diabetes mellitus tipo II (McGavock y col., 2007).

4.6.1 Efecto de la edad sobre la infiltración grasa del miocardio

Diversos estudios han revelado que el envejecimiento se asocia con cambios progresivos en la distribución de la grasa total y regional, lo que puede tener consecuencias negativas para la salud. En humanos senescentes, algunos tejidos como el miocardio tienen una mayor deposición de grasa, lo que aumenta el riesgo de enfermedades cardiovasculares (Kuk y col., 2009).

Sin embargo, en otro estudio no se encontró correlación entre la edad y el grado de infiltración grasa del miocardio en humanos (Luo y col., 2010).

4.6.2 Efecto de la obesidad sobre la infiltración grasa del miocardio

Se han establecido firmes vínculos entre la obesidad y el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Por otra parte, estudios en el ámbito de la homeostasis, han demostrado que los insuficientes mecanismos para garantizar un manejo adecuado de los excedentes de energía, se asocian con acumulación de grasa visceral y sobrecarga de lípidos en los órganos internos, incluyendo el corazón (Mathieu y col., 2008).

La infiltración grasa del miocardio y epicardio se incrementa con el grado de adiposidad visceral y posiblemente contribuye a los cambios a nivel cardíaco asociados a la obesidad (Malavazos y col, 2010).

4.6.3 Efecto de la dieta sobre la infiltración grasa del miocardio

En un estudio hecho en ratas, se indujo infarto de miocardio ventricular administrando una dieta alta en grasas donde fue necesario un mínimo de ocho semanas para la aparición del infarto del ventrículo; sin embargo, distintas alteraciones del miocardio eran visibles antes del evento terminal (Fischer, 1979). En las primeras cuatro semanas de exposición a la dieta grasa, las características morfológicas de la respuesta del miocardio consistieron en: 1) un gradual y progresivo aumento de la deposición de lípidos en los cardiomiocitos, y 2) la movilización de los macrófagos. Con la administración continua de la dieta, la manifestación morfológica más notable en el corazón consistía en una invasión extensa de los macrófagos en los espacios intersticiales dentro de la masa muscular. Estos resultados indican que las grasas dietéticas estimulan el sistema retículo-endotelial, y que la inducción de

los infartos de miocardio es una consecuencia de la actividad macrofágica excesiva (Fischer, 1979).

4.6.4 Efecto sobre la conducción y contracción ventricular normal

Sólo en raras ocasiones la infiltración grasa es responsable de una enfermedad cardíaca grave, pero cuando invade al miocardio, puede interferir con la contracción ventricular normal. La infiltración grasa rara vez ha sido reportada como causa de un defecto de conducción cardíaca (Balsaver y col., 1967). La sustitución del miocardio normal por grasa o tejido fibroadiposo, constituye un sustrato que puede condicionar alteraciones eléctricas y mecánicas del miocardio debido a la conductividad eléctrica más baja de la grasa, y la infiltración fibroadiposa del miocardio se ha demostrado que se asocia con muerte súbita (Kellman, 2010). Ambos ventrículos pueden verse implicados; la infiltración del corazón con grasa dificulta su función y puede llevar a la insuficiencia cardíaca (Sánchez-Rubio y col., 2005).

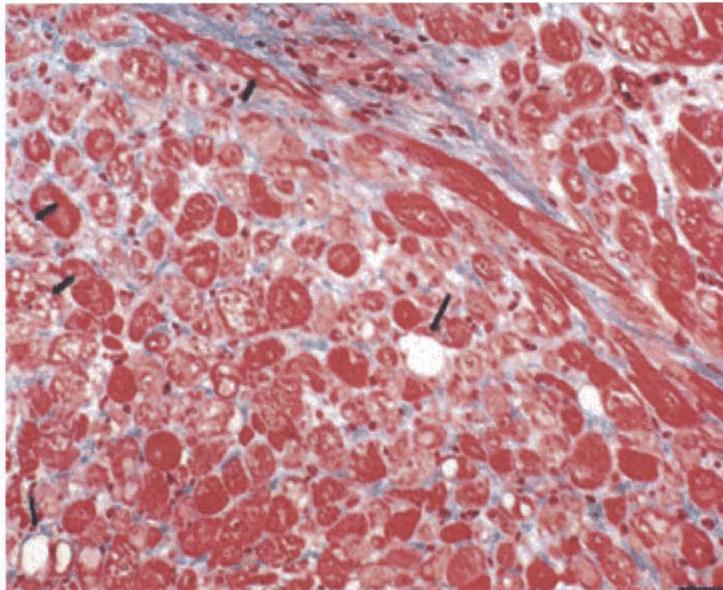
4.6.5 Patologías y enfermedades que cursan con infiltración grasa del miocardio

4.6.5.1 Cardiomiopatía dilatada canina.

La cardiomiopatía dilatada (CMD), que se caracteriza por la dilatación de las cámaras y disfunción miocárdica sistólica y diastólica, es una de las enfermedades cardiovasculares adquiridas más comunes en perros (Tidholm y Jönsson, 2005, y Lobo y col., 2010). La revisión de los informes sobre los hallazgos histológicos en perros con CMD diagnosticados clínicamente pone de manifiesto dos formas histológicamente distintas de CMD (Tidholm y Jönsson, 2005):

- infiltración grasa degenerativa, tipo de cardiomiopatía de Boxers y Doberman Pinscher;
- fibra ondulada "atenuada", tipo de cardiomiopatía más prevalente, vista en razas gigantes, grandes y medianas, incluyendo también Boxers y Doberman Pinscher.

La infiltración grasa degenerativa fue descrita por primera vez como cardiomiopatía del Boxer (Harpster, 1983). Las lesiones del miocardio (ver fotografía 12) asociadas al tipo de infiltración grasa degenerativa de la CMD incluyen miocitosis, degeneración y atrofia de miofibras, vacuolización y atrofia de miocitos con extensa fibrosis (reemplazo del miocardio por haces densos de colágeno) e infiltración grasa (depósitos de lípidos) para sustituir las miofibrillas (Everett y col., 1999). Similares lesiones miocárdicas fueron descritos por otros autores en Doberman Pinscher con diagnóstico clínico de CMD (Calvert y col. 1982).



Fotografía 12: imagen histológica (tricromico de Masson. Bar = 20 micras) de miocardio del ventrículo izquierdo de un perro con CMD del tipo de infiltración grasa degenerativa. Se observa degeneración vacuolar de las miofibrillas (flechas pequeñas), atrofia de miofibrillas, depósitos de lípidos (flechas grandes), y cordones de colágeno (tinción en azul) (Tidholm y Jönsson, 2005).

El objetivo de un estudio fue describir las características histológicas de la CMD en 10 perros que padecían esta enfermedad, con especial atención en la localización y cuantificación de las fibras onduladas atenuadas, fibrosis e infiltración grasa del miocardio; estas lesiones se observaron en el miocardio de todos los perros con CMD. Basándose en estas características histológicas el miocardio ventricular izquierdo fue el mejor tejido para el diagnóstico de CMD (Lobo y col., 2010).

4.6.5.2 Cardiomiopatía arritmogénica del ventrículo derecho

La cardiomiopatía arritmogénica del ventrículo derecho (CAVD) es una patología hereditaria que se caracteriza por la infiltración fibroadiposa del miocardio ventricular derecho que conduce a regiones hipocinéticas del corazón, causando en última instancia arritmias malignas y fallo cardíaco (Shafi y Anglade, 2009). Biopsias endomiocárdicas en pacientes humanos jóvenes con CAVD demuestran que la fibrosis aparece con mayor frecuencia que la infiltración grasa (Hamilton, 2009).

En perros Boxer se ha observado el desarrollo de CAVD (Oyama y col., 2008). Una perra Boxer de 3 años de edad fue evaluada por sufrir un síncope e intolerancia al ejercicio; tres meses después de la aparición de los síntomas clínicos, a pesar del tratamiento la paciente desarrolló signos de insuficiencia cardíaca congestiva derecha, y la eutanasia se realizó debido a la ascitis refractaria. El diagnóstico definitivo de CAVD se realizó mediante necropsia. En contraste con el tipo de cardiomiopatía dilatada del Boxer, la dilatación primaria se produjo en el atrio y ventrículo derechos, y la pared ventricular derecha era más delgada en los lugares subtricuspidal, apical e infundibular, similar al "triángulo de la displasia" de pacientes humanos con CAVD. Las lesiones histológicas mostraron una atrofia de miocitos y su sustitución por tejido adiposo y fibroso en el ventrículo y atrio derechos. Este informe apoya la

hipótesis de que la CAVD es una enfermedad progresiva que también puede afectar a la pared libre del ventrículo izquierdo si el paciente vive lo suficiente (Boujon y Amberger, 2003).

4.6.5.3 Miocarditis

El reemplazo fibroadiposo de tejido de miocardio parece ser una consecuencia de la pérdida de miocitos por distintas causas, como la miocarditis u otros estímulos nocivos (Tidholm y Jönsson, 2005).

4.6.5.4 Síndrome metabólico

La obesidad visceral y sus consecuencias metabólicas a menudo se conocen como síndrome metabólico (Mathieu y col., 2008). En pacientes humanos con síndrome metabólico (que incluye varias entidades fisiopatológicas tales como resistencia a la captación de glucosa mediada por insulina, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia, aumento de triglicéridos en las VLDL, disminución del colesterol tipo HDL e hipertensión arterial) donde el objetivo de un estudio era determinar los mecanismos fisiopatológicos de la principal disminución de la tolerancia al ejercicio, las técnicas de microscopía electrónica pusieron de manifiesto la fibrosis intersticial difusa y focal, la hipertrofia de las células del miocardio y la infiltración grasa del miocardio (Sokolov y col., 2009).

4.6.5.5 Hipoxia prolongada

En un estudio se realizaron exámenes morfológicos del corazón luego de 20 días de un período prolongado de hipoxia. A los 30 días los resultados mostraron una desintegración microgranular del miocardio e infiltración grasa de las fibras musculares, mientras que más tarde, después de 60 días, se observó desarrollo de fibrosis (Konopiński y Zimnoch, 1976).

4.7 Densidad de capilares en miocardio e importancia patológica.

La perfusión correcta y la integridad de los vasos son requisitos clave para la homeostasis del miocardio. En este sentido, la angiogénesis en el miocardio se produce en condiciones fisiológicas y patológicas; el fracaso en este proceso y el suministro deficiente de oxígeno resultante pueden inducir la pérdida y degeneración de los cardiomiocitos, la atrofia y la fibrosis intersticial, los cuales son vistos como una causa principal de la disfunción del miocardio e insuficiencia cardíaca (Hilfiker-Kleiner y col., 2005).

El remodelado vascular es un término que se usa comúnmente para definir los cambios estructurales en la geometría de los vasos sanguíneos que se producen en respuesta a alteraciones fisiológicas en el flujo sanguíneo a largo plazo o en respuesta a la lesión de la pared vascular provocado por un trauma o enfermedades cardiovasculares subyacentes (Gibbons y Dzau, 1994). El proceso de remodelación, que empieza como una respuesta adaptativa a las alteraciones hemodinámicas a largo plazo, tal como el aumento de la presión intravascular, puede eventualmente dar lugar a una alteración de la función vascular.

El endotelio vascular, debido a su ubicación recubriendo el lumen de los vasos sanguíneos, juega un papel fundamental en la regulación de todos los aspectos de la función vascular y homeostasis (Quyyumi, 1998). Por lo tanto, no es sorprendente que la disfunción endotelial haya sido reconocida como la

precursora de todas las enfermedades cardiovasculares mayores, tales como la hipertensión, aterosclerosis y diabetes.

La remodelación vascular es un proceso complejo y altamente regulado que implica la activación de múltiples cascadas de señalización y factores de transcripción, que funcionan coordinadamente para inducir la expresión de genes implicados en el crecimiento de células vasculares, proliferación, apoptosis, migración, adhesión, y síntesis de matriz extracelular (Dzau y Gibbons, 1991). Todos los componentes de la pared vascular parecen estar implicados en el proceso de remodelación (McGrath y col., 2005), y la evidencia reciente sugiere que el músculo liso y las células endoteliales pueden participar activamente en la remodelación vascular.

4.7.1 Posibles factores de variación de la densidad de capilares en miocardio

Existen muchas condiciones cardíacas que afectan a la estructura y función de los capilares, así como a la reología microvascular. Los capilares del miocardio son los principales determinantes de la reserva del flujo coronario (Kaul y Jayaweera, 2008).

4.7.1.1 Disminución de la densidad de capilares en miocardio

- **Insuficiencia cardíaca:** se ha demostrado que se desarrolla fibrosis intersticial en el miocardio de perros con insuficiencia cardíaca y se asocia con una densidad capilar reducida, aumentando la distancia media entre dos capilares adyacentes, lo que lleva a una menor difusión de oxígeno e hipoxia del tejido (Sabbah y col., 1996). También se ha descrito la disminución de la densidad capilar en individuos humanos con insuficiencia cardíaca congestiva como resultado de la cardiomiopatía dilatada idiopática (Tsagalou, 2008) o inflamatoria (Karch y col., 2005), y en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica (Duscha, 1999).
- **Cardiomiopatía hipertrófica (CMH):** se ha encontrado una disminución de la densidad capilar del miocardio en individuos humanos con el corazón hipertrofiado (Pearlman, 1981). Hallazgos morfológicos han mostrado que la oferta capilar, y por lo tanto la reserva coronaria, se ven afectadas en la CMH moderada y con obstrucción de las vías de salida del ventrículo. Estos datos pueden explicar en parte la limitación de la perfusión miocárdica en la CMH, que se asocia con un peor pronóstico. Por otra parte, en la CMH se ha presentado evidencia de una pérdida real de los capilares y de un crecimiento capilar defectuoso. En un estudio se concluyó que el número promedio de capilares que rodean a los cardiomiocitos fue menor en los pacientes con CMH que en los controles sanos (Johanson y col., 2008). La respuesta angiogénica al crecimiento patológico durante la hipertrofia cardíaca, depende de la etapa de desarrollo del organismo, es decir que cuanto más joven es el individuo mayor es la respuesta angiogénica sobre la naturaleza del estímulo de crecimiento (Rakusan, 1999).
- **Lesiones isquémicas:** la densidad capilar del músculo esquelético y la relación entre capilares y fibras musculares se redujo significativamente en ratas infartadas en forma experimental (Schieffer y col., 1995). En perros domésticos hay evidencia de la disminución del número de

capilares en regiones isquémicas del miocardio luego de haberse ocluido experimentalmente la arteria paraconal (Kramer, 1998).

- **Edad:** algunos estudios sugieren que la densidad numérica capilar es menor en perros senescentes (Tomanek, 1991). Durante la etapa adulta del desarrollo, la angiogénesis capilar disminuye considerablemente pero no desaparece completamente. Sin embargo, el aumento de la longitud capilar no es proporcional al aumento concomitante en el volumen de los cardiomiocitos, resultando en una reducción de la densidad capilar. La etapa senescente va acompañada de una disminución en la densidad de capilares y arteriolas (Rakusan, 1999).
- **Obesidad:** modelos animales en condiciones de obesidad, han mostrado una reducción del flujo sanguíneo tisular en respuesta al ejercicio o a cualquier aumento de la actividad metabólica local (Hodnett y Hester, 2007). Además de una hiperemia funcional limitada, y por lo tanto una incapacidad de proporcionar un suministro adecuado de sangre a los tejidos activos en un entorno obeso, hay una restricción adicional dentro del tejido periférico que se hace mas relevante con una demanda metabólica elevada. Con el desarrollo de la obesidad, estudios previos han demostrado que se desarrolla una rarefacción microvascular progresiva (reducción de la densidad capilar) en múltiples tejidos u órganos (Frisbee, 2007). Esta rarefacción puede llevar a la hipoxia e isquemia tisular que predispone a la disfunción celular, además de las reducciones en el transporte de nutrientes, suministro de sangre, y capacidad de recambio en los tejidos (Stapleton y col., 2008).
- **Hipertensión:** el desarrollo de la hipertensión se acompaña de rarefacción de arteriolas y capilares en el miocardio de modelos animales y seres humanos (Levy y col., 2001). La rarefacción microvascular, definida como una pérdida de las arteriolas terminales, vénulas pequeñas y/o capilares, es una característica común del síndrome de hipertensión (Murfee y Schmid-Schönbein, 2008). Se ha encontrado que la hipertensión se asocia a una disminución de la densidad capilar en el miocardio de perros (Tomanek, 1986) y humanos (Kamezaki y col., 2007).
- **Diabetes:** la diabetes aumenta la morbilidad y la mortalidad asociada con los síndromes cardíacos isquémicos y procesos de revascularización coronaria. Se ha sugerido que la diabetes puede estar asociada con disminución de la densidad capilar y/o con una alteración en la formación de vasos colaterales en el miocardio. Estudios en ratones han concluido que la expresión reducida de receptores de insulina en el miocardio parece contribuir a la disminución de la densidad capilar; esto a su vez, puede empeorar la lesión isquémica del miocardio y posiblemente las lesiones apoptóticas durante el estrés (McQueen y col., 2005).
- **Falla renal:** en casos de insuficiencia renal experimental, en el miocardio se ha comprobado la disminución en la capilarización, mayor distancia intercapilar e hipertrofia de los cardiomiocitos, anomalías que exponen el corazón a una reducida tolerancia a las lesiones isquémicas. Se ha encontrado una disminución en la densidad capilar en el miocardio de ratas parcialmente nefrectomizadas; en este caso, las ratas fueron sometidas a una insuficiencia renal durante 8 semanas, luego de

las cuales se comprobaron significativos aumentos de la presión arterial sistólica y de los niveles de urea y creatinina séricas, con respecto a los controles normales. Por otra parte, la densidad capilar del miocardio fue significativamente reducida luego de la nefrectomía parcial. Estos datos documentan un defecto selectivo de la capilarización en el miocardio de los animales con insuficiencia renal moderada (Amann y col., 1997).

4.7.1.2 Aumento de la densidad de capilares en miocardio

- **Actividad física:** el ejercicio altera el remodelado vascular, estimulando el crecimiento capilar, la angiogénesis (formación de nuevas redes capilares) y la arteriogénesis (crecimiento de arteriolas colaterales pre-existentes que conducen a la formación de las arterias de conductancia grandes, que son capaces de compensar la pérdida de la función de las arterias ocluidas) (Leunq, 2008). El ejercicio y sobretudo el entrenamiento de resistencia estimula el crecimiento de capilares en el corazón, principalmente en animales jóvenes, pero este efecto es menor en adultos. Cuando el entrenamiento conduce a la hipertrofia cardíaca, la densidad capilar puede ser mantenida en un nivel normal, lo que indica una cierta capacidad para el crecimiento capilar. El crecimiento de los grandes vasos coronarios con el entrenamiento físico es evidente por el aumento del número de arterias y arteriolas, aunque los vasos colaterales no crecen en los corazones normales como resultado del entrenamiento. Los estímulos posibles para el crecimiento de los vasos durante el ejercicio son el aumento del flujo sanguíneo coronario, una mayor fuerza de contracción del miocardio, algunas influencias hormonales y humorales, y otros factores de crecimiento. A más largo plazo, los factores que intervienen en estos estímulos pueden ser el aumento de la tensión de la pared vascular (debido al aumento del flujo sanguíneo y/o presión), el aumento de esfuerzo con la consiguiente liberación de óxido nítrico y prostaglandinas, y el aumento de la fuerza de contracción (Brown y Hudlická, 1999).
- **Temperatura ambiental:** existen estudios que sugieren un aumento en la densidad capilar en el músculo de ratas y hámsters en condiciones de baja temperatura ambiental. La aclimatación crónica a bajas temperaturas provoca un grado variable de atrofia muscular, que a su vez aumenta la densidad capilar (Egginton, 2002).
- **Eritropoyetina:** se ha investigado los efectos de la eritropoyetina en la neovascularización y la función cardíaca tras un infarto experimental de miocardio en perros; se comprobó que la eritropoyetina administrada en forma endovenosa en diferentes momentos luego del infarto experimental de miocardio, aumenta la neovascularización del miocardio isquémico y mejora la disfunción ventricular izquierda tras el infarto de miocardio en los perros. Se concluye que además de su efecto en la limitación del tamaño del infarto agudo, la eritropoyetina ejerce efectos antiapoptóticos, mejora la neovascularización, probablemente a través de la movilización de las células progenitoras endoteliales, y mejora la disfunción cardíaca en la fase crónica, aunque tiene limitaciones en la ventana de tiempo (Hirata y col., 2006).

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

Estudiar las eventuales correlaciones entre diversos factores predisponentes (sexo, edad, tamaño, estado de carnes, tipo de alimentación, estilo de vida y convivencia o no con fumadores del perro doméstico), lesiones vasculares ateroscleróticas coronarias y abundancia de adipocitos y densidad de capilares sanguíneos.

5.2 Objetivos particulares

5.2.1 Describir la eventual presencia de lesiones y sus características histológicas en las arterias coronarias y en las ramas arteriales de las mismas en el perro.

5.2.2 Determinar:

- la densidad y el volumen porcentual de los adipocitos en el miocardio banal y en los paquetes vásculo-nerviosos asociados,
- la densidad de capilares sanguíneos en el miocardio y
- el espesor de las diferentes capas (íntima, media y adventicia) de la pared de la arteria coronaria paraconal proximal.

5.2.3 Determinar el sexo, la edad, el tamaño, el estado de carnes, el tipo de alimentación, el estilo de vida y la convivencia o no con fumadores en los sujetos estudiados. Se investigó si existe alguna correlación entre las características histológicas, la eventual presencia de lesiones en la vasculatura cardíaca y el sexo, la edad, el tamaño, el estado de carnes, el tipo de alimentación, el estilo de vida (régimen de vida y temperamento) y la convivencia o no con fumadores en los perros estudiados.

6. HIPOTESIS

6.1 Hipótesis nula

No existe correlación entre los factores predisponentes, las lesiones ateroscleróticas vasculares coronarias y la abundancia de adipocitos y densidad de capilares sanguíneos.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 Condiciones de trabajo

El presente trabajo se basó en un muestreo multicéntrico de perros de diferentes edades y estilos de vida en la ciudad de Montevideo. Se muestrearon cadáveres disponibles en el Hospital Veterinario de nuestra Facultad de Veterinaria y en el Servicio de Necropsias (Departamento de Patología) de la misma. Asimismo, se visitó una serie de Clínicas Veterinarias de Montevideo. En todos los casos se utilizó un protocolo de toma de muestras, una ficha de remisión de material y cartas adjuntas para el colega tratante y para el dueño del perro fallecido (ver Anexos).

En la ficha de remisión de material se incluyeron los datos personales del propietario del perro fallecido, lugar de procedencia del cadáver (Hospital de Facultad o clínicas particulares), del colega tratante, reseña del animal donante (sexo, edad, raza, peso, tamaño), antecedentes clínicos (patologías o enfermedades diagnosticadas previamente), motivo o causa de muerte, estado de carnes previo al fallecimiento (caquético, delgado, normal u obeso), tipo de alimentación (ración, comida casera o ambas), régimen de vida (ejercicio reglamentado, libre o sedentario), temperamento (estresado, hiperquinético o tranquilo) y convivencia o no con fumadores.

En las cartas adjuntas para los colegas tratantes y propietarios de los perros fallecidos, se hacía un breve comentario de los objetivos del presente estudio y se explicaban los procedimientos que se iban a realizar para la toma de muestras de los animales donantes.

Nos propusimos muestrear no menos de 50 perros, cubrir el mayor rango de edades posible y asegurar al menos 10 individuos con régimen de vida "sedentario" y con estilo de vida "sano" (animales con actividad física regular y sin manifestaciones clínicas de enfermedad).

Se logró realizar un muestreo total de 68 individuos, de los cuales se obtuvo un número menor (variable según la técnica aplicada) de preparados histológicos aptos para su posterior evaluación.

7.2 Procedimientos de muestreo

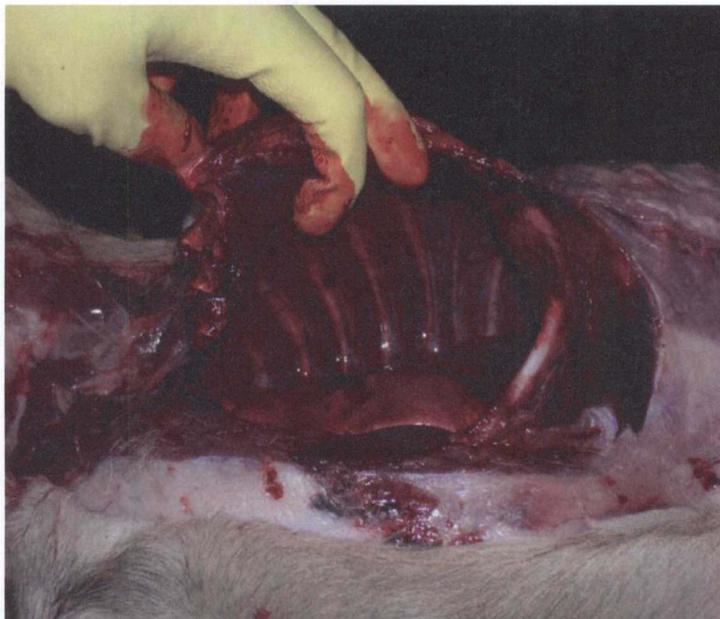
Las muestras fueron debidamente identificadas con un código autogenerated idéntico al de la ficha de remisión de material acompañante. En este código se especificaron algunos datos del animal donante en el siguiente orden:

- 1) sexo ("M" para los machos y "H" para las hembras);
- 2) fecha del muestreo, especificando el día y el mes del muestreo (ejemplo: "24-5");
- 3) edad, ordenando en tres franjas etarias ("A" para los individuos de 0 a 2 años, "B" para los de 3 a 8 años, y "C" para los mayores de 9 años);
- 4) número que identifica el orden en que fueron tomadas las muestras.

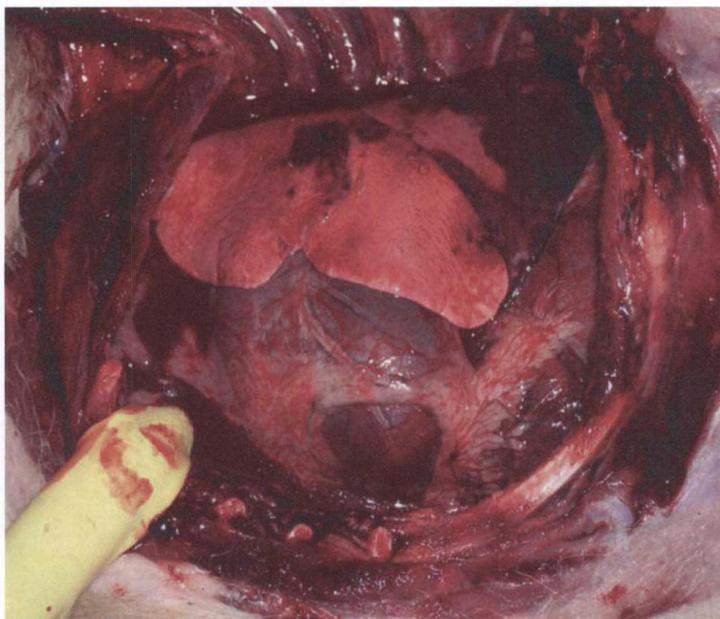
Como ejemplo, hacemos referencia a uno de los animales muestreados: su código es M5-7B22, y se trataba de un individuo macho, muestreado el día 5 de julio, de 8 años de edad, siendo la vigésima segunda toma de muestras.

Las muestras fueron fijadas en un plazo máximo de 3 horas a partir del momento en que se interrumpió la circulación sanguínea en la zona. Las fijaciones se realizaron (al menos durante 48 horas) por inmersión en solución de formol bufferado al 10%.

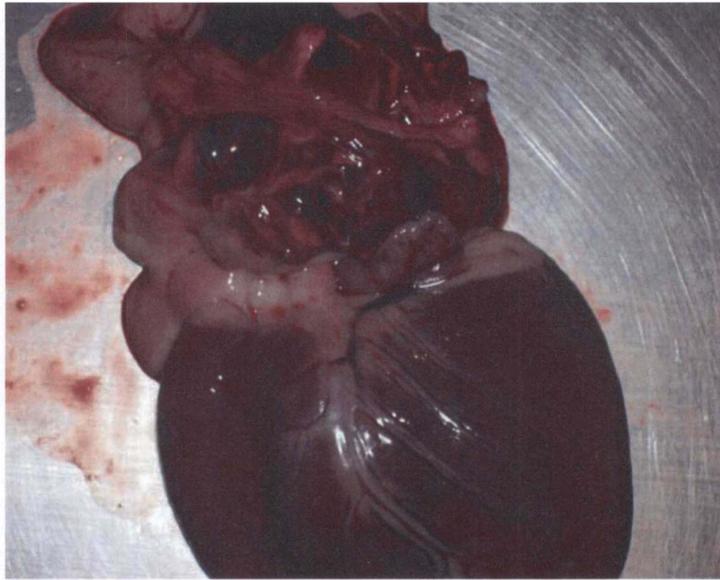
Para la toma de muestras, primero se abrió la parrilla costal cuidando de no lesionar el corazón, se cortaron las falsas costillas a ambos lados del esternón, levantando el mismo hacia cráneodorsal y se cortaron las axilas para mayor comodidad (ver fotografías 13 y 14). Se separó el corazón a nivel de los grandes vasos, cuidando de no manipularlo en exceso para evitar alteraciones de los tejidos a muestrear (ver fotografía 15). Luego, se separó el tronco coronario (raíz) de ramas coronarias derecha e izquierda con aproximadamente 5 mm de tejido circundante a cada lado. Como guía de la zona a muestrear se tomaron las arterias coronarias derecha e izquierda, siguiéndolas en forma retrógrada, hasta encontrar el origen en común de ambas.



Fotografía 13: fotografía que muestra el abordaje de la cavidad torácica, durante el proceso de toma de muestras.

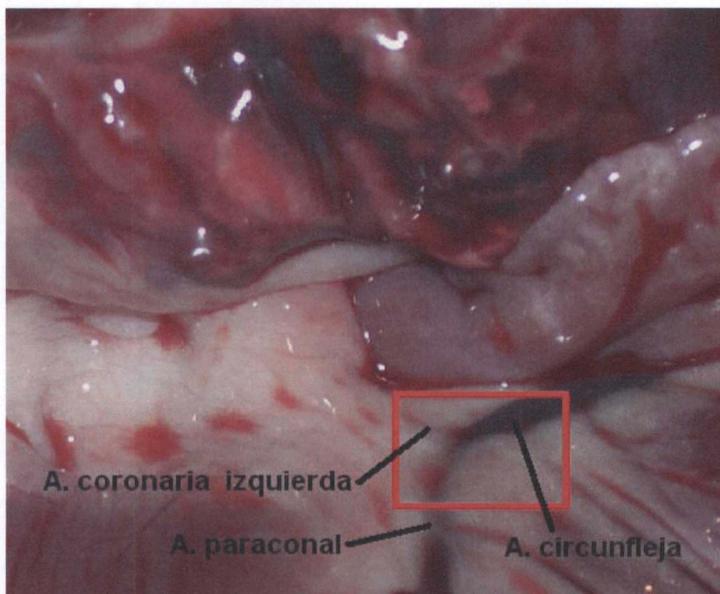


Fotografía 14: fotografía que exhibe la cavidad torácica; se observa en primer plano los lóbulos pulmonares izquierdos y el corazón inmediatamente por debajo.



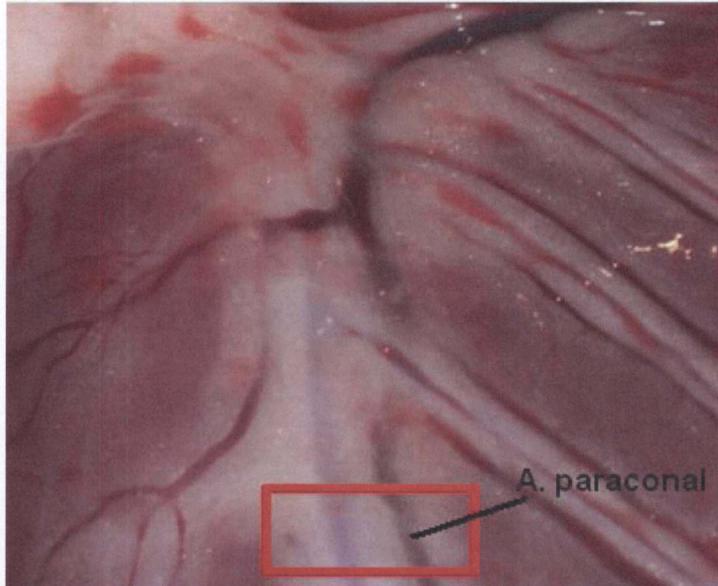
Fotografía 15: fotografía que muestra el corazón luego de ser retirado de la cavidad torácica.

Las muestras de corazón fueron tomadas del surco coronario, en la zona de la primera bifurcación de la arteria coronaria izquierda en las ramas paraconal y circunfleja (ver fotografía 16); este sector muestreado incluyó los grandes vasos de la zona, además de miocardio atrial y ventricular, orientándose el corte transversalmente a la primera porción de la arteria paraconal, en una muestra de unos 2 cm de largo y unos 7-8 mm de ancho; el ancho no fue mayor para facilitar la rápida fijación. En estas muestras se estudió el espesor de las diferentes capas (íntima, media y adventicia) que componen la pared de la arteria paraconal, utilizando como unidad de medida el micrómetro (μm).



Fotografía 16: fotografía donde se especifica el sitio de muestreo (rectángulo rojo) en la primera bifurcación de la arteria coronaria izquierda en las ramas paraconal y circunfleja.

También se tomaron muestras de tejido hacia el ápice del corazón en las porciones más distales de la arteria paraconal (ver fotografía 17); este sector muestreado incluyó miocardio y una porción de la arteria paraconal, orientándolo de tal manera de cortar la mayor cantidad de ramas arteriales menores (que en su gran mayoría son paralelas entre sí y con las fibras musculares), en una muestra de 2 cm de largo y unos 5-6 mm de ancho. En estas muestras se determinaron la densidad y el volumen porcentual de adipocitos en el miocardio y en los paquetes vásculo-nerviosos asociados, y la densidad de capilares sanguíneos.



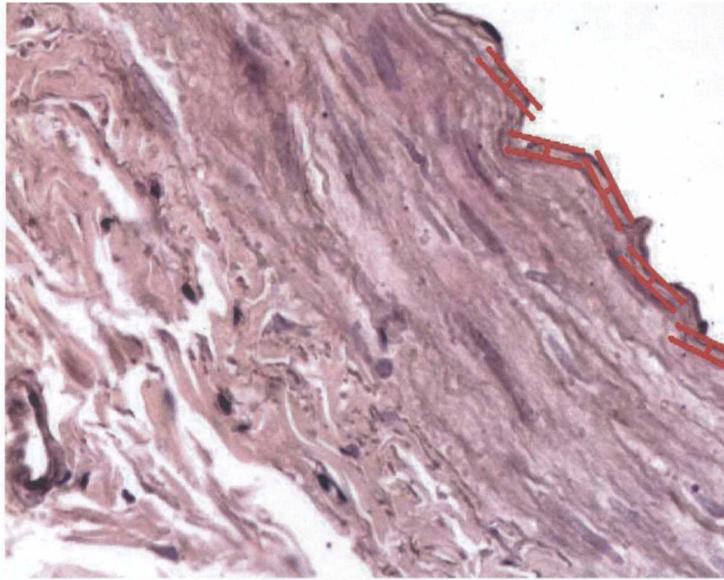
Fotografía 17: fotografía que muestra el sitio de muestreo (rectángulo rojo) que incluye miocardio ventricular y una porción más distal del trayecto de la arteria paraconal.

Las muestras fijadas fueron procesadas histológicamente con técnicas clásicas:

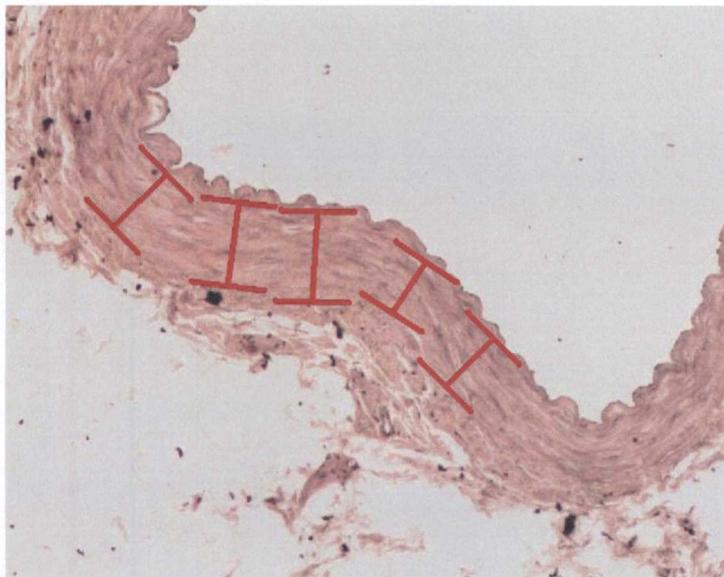
- 1) luego de estar adecuadamente fijadas en formol al 10%, las muestras fueron sometidas a inmersiones sucesivas en etanol 70°, 95° y 100°, luego en xilol y luego en tres pasajes sucesivos (treinta minutos cada uno) por parafina líquida en estufa a 60°C. Con esta técnica se logra que los tejidos eliminen el formol y se infiltren en parafina;
- 2) las muestras fueron incluidas en un bloque de parafina, orientando los tejidos de manera adecuada para lograr que los sectores a estudiar quedaran ubicados transversalmente a la superficie de corte;
- 3) los bloques fueron cortados con micrótopo a 6-7 μm , y las secciones resultantes fueron hechas flotar en un recipiente con agua a 49-50°C para que las cintas de secciones de parafina se extendieran junto con los tejidos incluidos en ellas. Los cortes fueron levantados con portaobjetos dejándolos secar a temperatura ambiente por 24 horas. Se buscó obtener por lo menos 10 cortes de cada muestra correspondiente al sector de la primera porción de la arteria paraconal, y otros 10 cortes del sector que incluía la porción más distal de la arteria paraconal, con una mayor proporción de tejido miocárdico;

- 4) los portaobjetos con las secciones de parafina y tejidos incluidos en ellas fueron inmersos en xilol para desparafinar durante 20 minutos en estufa a 60°C. El xilol se empleó para retirar la parafina y dejar sólo los tejidos fijados en las láminas;
- 5) luego las láminas se sometieron a inmersiones sucesivas en etanol a temperatura ambiente durante un minuto cada una, dejando escurrir las muestras luego de cada pasaje. La primera inmersión se hizo en etanol 100°, la segunda en etanol 96°, y la tercera en etanol 70°. Estos pasos se realizaron para ir hidratando los tejidos;
- 6) posteriormente se realizó un lavado de los preparados en agua corriente para completar el proceso de hidratación;
- 7) los preparados fueron coloreados con hematoxilina mediante inmersión durante 2-4 minutos. Luego de esta coloración se realizó un virado de la hematoxilina utilizando agua corriente;
- 8) la segunda coloración se realizó mediante inmersión en eosina durante 45-60 segundos, y luego se realizó un lavado en agua corriente;
- 9) luego de estas coloraciones los preparados fueron vueltos a someter a 3 pasajes sucesivos por etanol durante 1 minuto para deshidratarlos. El primer pasaje se realizó en etanol 70°, el segundo pasaje se hizo en etanol 96°, y el tercero en etanol 100°;
- 10) se hizo una inmersión de los preparados en xilol de montar a temperatura ambiente durante 20 minutos. Posteriormente se realizó el montaje colocando una gota de bálsamo sobre la muestra, luego colocando un cubreobjeto sobre ella cuidando de que no se formaran burbujas de aire y dejando secar a temperatura ambiente durante 24-48 horas;
- 11) por último los bloques de parafina y los preparados ya coloreados fueron identificados con su correspondiente código autogenerated y archivados para su posterior evaluación y análisis.

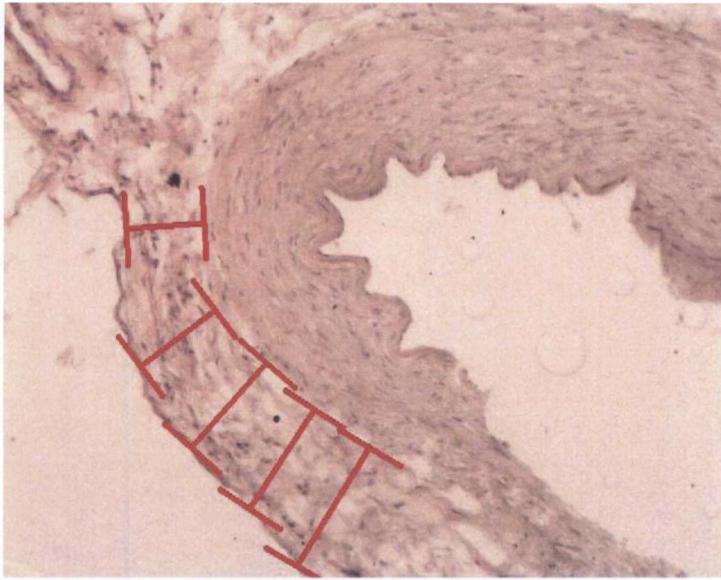
En el caso de los cortes transversales de la primera porción de la arteria paraconal, se tomaron una serie de fotografías mediante el microscopio en las cuales se evaluó el espesor de la pared arterial, midiendo en cada uno de los preparados el espesor en μm de las capas íntima, media y adventicia; se realizaron 30 mediciones por cada una de estas capas arteriales. La capa íntima fue medida a un aumento de 400x (fotografía 18), y las capas media y adventicia se midieron a un aumento de 100x (fotografías 19 y 20). Luego en cada preparado se calculó la media de las mediciones de cada una de las capas arteriales.



Fotografía 18: imagen que ejemplifica el método de medición del espesor de la capa íntima, donde se observan 5 sectores donde se determinaron estas mediciones (líneas rojas). Esta imagen histológica (aumento de 400x) de un corte transversal de la primera porción de la arteria paraconal, corresponde a una perra cruce de 5 años de edad (código autogenerado H4-8B39).

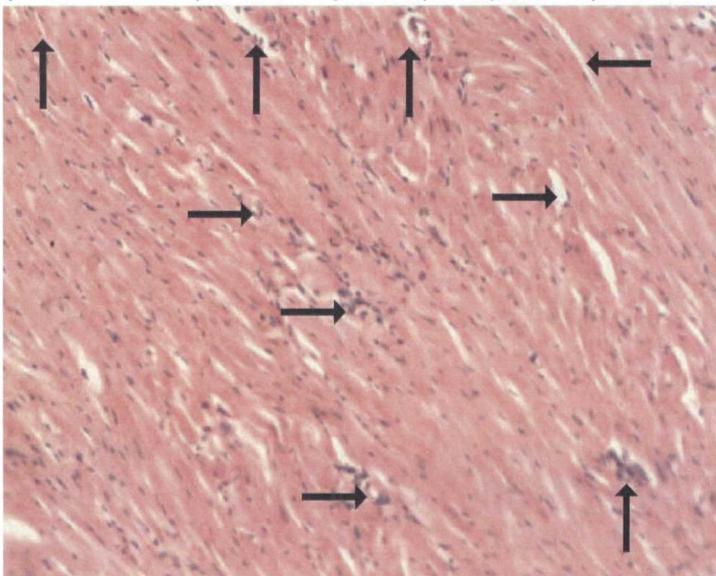


Fotografía 19: imagen histológica (aumento de 100x) de otra sección del vaso del mismo preparado de la fotografía anterior, ejemplificando el método de medición del espesor de la capa media, donde se observan 5 sectores (líneas rojas) donde se determinaron estas mediciones.



Fotografía 20: imagen histológica (aumento de 100x) de otra sección del vaso del mismo preparado de las fotografías anteriores, donde se exhibe (líneas rojas) el método de medición de la capa adventicia. Estas mediciones también fueron realizadas en 5 sectores diferentes de esta capa vascular.

Luego del cálculo de la media para cada una de las capas arteriales, en estos cortes se realizó una clasificación histopatológica de los diferentes tipos de lesión vascular según la morfología tisular observada. Para esta descripción se tuvo en cuenta la clasificación de las lesiones ateroscleróticas de la AHA descrita en la revisión bibliográfica. De esta manera se realizó una división en siete tipos: sin lesión (pared vascular normal), lesión tipo I (inicial), lesión tipo II (estría grasa), lesión tipo III (intermedia), lesión tipo IV (ateroma), lesión tipo V (fibroateroma), lesión tipo VI (complicada).



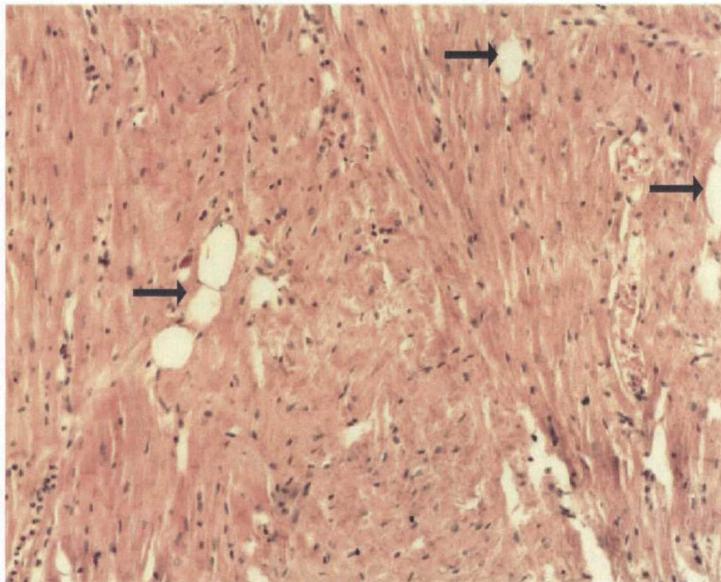
En los cortes donde se evaluó el miocardio ventricular se midió la densidad de capilares; en esta medición se tomaron 10 fotografías microscópicas de cada preparado a un aumento de 100x. En cada una de las imágenes tomadas se contabilizó el número de capilares presentes (fotografía 21), y luego se calculó el promedio del número de capilares para cada preparado.

Fotografía 21: imagen que muestra el método utilizado para la medición de la densidad de capilares. Esta imagen histológica (aumento de 100x) corresponde a una porción de miocardio ventricular de una perra cruzada de 13 años de edad (código H15-5C5); las flechas negras indican la presencia de capilares.

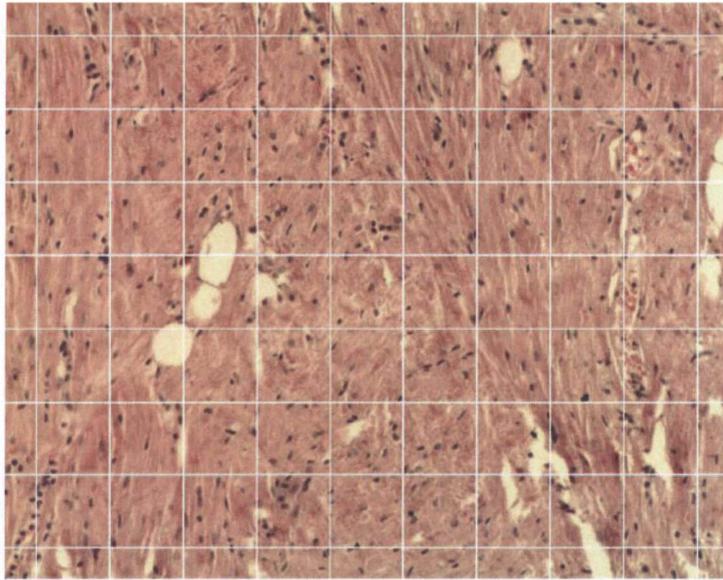
Además de la medición de la densidad de capilares, en los cortes de miocardio ventricular también se determinó el número de adipocitos/imagen y se calculó el volumen porcentual de adipocitos clasificando en este caso el tejido adiposo que forma parte del miocardio banal (MB) y el que compone los paquetes vasculo-nerviosos (PVN). Para estas mediciones se tomaron 50 fotografías por cada preparado y evaluando las imágenes a un aumento de 100x (ver fotografías 22 y 24).

Para el cálculo de la densidad de adipocitos se determinó el número de adipocitos/imagen, y luego en cada individuo se realizó una sumatoria de los adipocitos contabilizados en cada imagen. Este valor total de adipocitos se utilizó para el análisis estadístico.

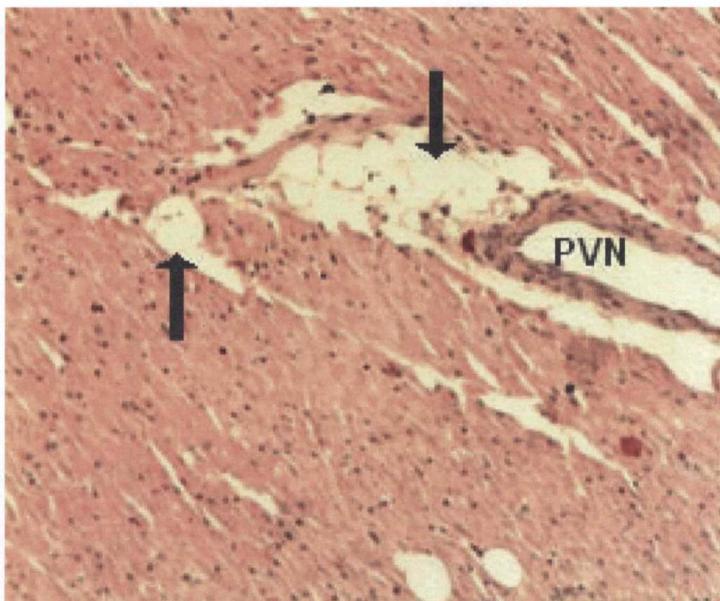
Para el cálculo de los volúmenes porcentuales, en cada imagen se utilizó una cuadrícula de 80 puntos (ver fotografías 23 y 25); cada uno de estos puntos corresponde al cruce de una línea horizontal con una vertical de la cuadrícula. Se contabilizó los adipocitos, tejido miocárdico, vasos y artefactos sobre los que cayó un punto correspondiente de la cuadrícula. Luego se calculó una sumatoria para cada una de estas variables, para luego calcular los volúmenes porcentuales crudos de los adipocitos (del MB y asociados a PVN), del tejido miocárdico y de los vasos.



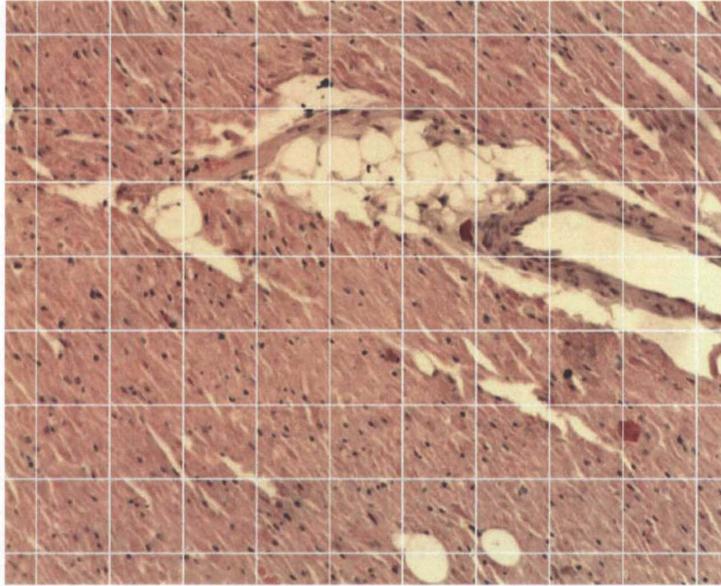
Fotografía 22: imagen utilizada para determinar el número de adipocitos/imagen, y los volúmenes porcentuales de adipocitos, vasos y tejido miocárdico. Esta imagen histológica (aumento de 100x) muestra una región de miocardio ventricular de un perro cruzado de 13 años de edad (código M27-6C19), Las flechas negras señalan la presencia de un conjunto de adipocitos que forman parte del MB.



Fotografía 23: exposición de la misma imagen de la fotografía anterior; se ejemplifica el método utilizado con el agregado de la cuadrícula con 80 puntos para el cálculo de los volúmenes porcentuales de adipocitos, vasos y tejido miocárdico. En este caso se contabilizaron 6 adipocitos/imagen, y para el cálculo de los volúmenes porcentuales se observa que un punto de la cuadrícula cae sobre un adipocito del MB, y el resto (79 puntos) caen sobre tejido miocárdico.



Fotografía 24: imagen donde se observa un conjunto de adipocitos (flechas negras) asociados a un paquete vásculo-nervioso (PVN); sobre el margen inferior se observa la presencia de un par de adipocitos asociados a MB. Esta imagen histológica (aumento de 100x) de un corte de miocardio ventricular corresponde al mismo individuo de las dos fotografías anteriores (código M27-6C19).



Fotografía 25: exposición de la misma imagen de la fotografía anterior con el agregado de la cuadrícula de 80 puntos. En este caso se contabilizaron 24 adipocitos/imagen, y para el cálculo de los volúmenes porcentuales se observa que tres puntos caen sobre un conjunto de adipocitos asociados a PVN, ocho puntos sobre vasos, y el resto (69 puntos) sobre tejido miocárdico.

Todas las fotografías tomadas de los preparados se obtuvieron por medio del programa *Infinity Capture*®, y luego evaluadas y analizadas en el programa *Infinity Analyze*®. Todos los datos obtenidos de las mediciones se incluyeron en una planilla electrónica junto con los restantes datos cuantitativos y cualitativos obtenidos en las fichas de remisión de muestras.

7.3 Análisis estadístico

Los valores obtenidos de las distintas variables fueron expresados como medias \pm desvío estándar. Los perros fueron clasificados en tres grupos experimentales: jóvenes (menores de 3 años), de mediana edad (3 a 8 años) y gerontes (9 o más años). Se agrupó los distintos animales según la lesión vascular más grave encontrada en la muestra correspondiente. Se hicieron anovas de una vía para el espesor de las capas íntima, media y adventicia, para el volumen porcentual de adipocitos asociados a PVN y MB, de miocardio y de vasos, para la densidad de adipocitos y de capilares. También se estudió la relación (test de χ^2 de Pearson) entre lesiones vasculares y sexo, edad, tamaño, estado de carnes, tipo de alimentación declarado, régimen de vida, temperamento declarado, y convivencia con fumadores declarada. Por otro lado se estudiaron las relaciones (test de χ^2 de Pearson) entre densidad de capilares y adipocitos, y edad, estado de carnes, sexo, tamaño y régimen de vida. Las diferencias entre grupos fueron estudiadas por análisis de varianza de una vía y tests *post hoc* de Bonferroni. Las diferencias fueron consideradas significativas a $P < 0,05$.

8. RESULTADOS

8.1 Clasificación de lesiones vasculares

El número total de muestras procesadas fue de 49. No se pudieron procesar las muestras histológicas de 3 animales por problemas de desprendimiento de cortes histológicos durante el proceso de coloración. La clasificación histológica de las lesiones vasculares determinó que 11 (22,4%) de los individuos evaluados no presentaron lesiones, 21 (42,8%) tuvieron lesiones tipo I, 9 (18,3%) tuvieron lesiones tipo II y 8 (16,3%) tuvieron lesiones tipo III o mayor (ver figura 5 y cuadro 2).



Figura 5: individuos distribuidos según los distintos tipos de lesiones vasculares.

Es de destacar que del 100% de muestras procesadas, un 22,5% no presentaron lesiones vasculares, mientras que el 77,5% restante presentaron algún grado de lesión (ver figura 6), aunque en la mayoría de los casos se trató de lesiones iniciales, microscópicas.

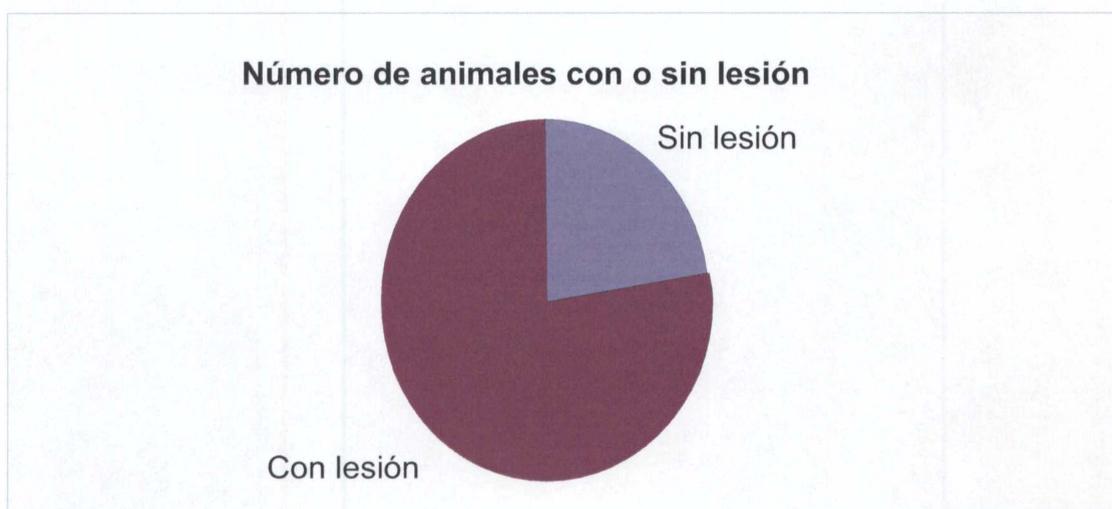


Figura 6: porcentajes de muestras sin lesiones y con lesiones.

8.2 Espesor de las capas vasculares: íntima, media y adventicia, y diferencias según el tipo de lesión vascular

8.2.1 Espesor de la capa íntima y diferencias según el tipo de lesión vascular

La media total \pm desvío estándar del espesor de la capa íntima (μm) fue $45,8 \pm 105,4$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 2. El grupo lesiones tipo III o mayor tuvo un espesor de la íntima mayor ($P=0,00$) al de los otros grupos.

8.2.2 Espesor de la capa media y diferencias según el tipo de lesión vascular

La media total \pm desvío estándar del espesor de la capa media (μm) fue $278,1 \pm 188,3$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión se presentan en el cuadro 2. El grupo lesiones tipo III o mayor tuvo un espesor de la media que tendió a ser mayor ($P=0,08$) al del grupo sin lesiones.

8.2.3 Espesor de la capa adventicia y diferencias según el tipo de lesión vascular

La media total \pm desvío estándar del espesor de la capa adventicia (μm) fue $130,6 \pm 60,2$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión se muestran en el cuadro 2. El grupo lesiones tipo III o mayor tuvo un espesor de la adventicia que tendió a ser mayor ($P=0,14$) al del grupo sin lesiones.

Cuadro 2: espesor de las capas vasculares íntima, media y adventicia (media \pm desvío standard) en arterias coronarias de perros con lesiones (tipos I a III o mayor) o sin lesiones.

CLASIF. LESIONES VASCULARES	EI (μm)	EM (μm)	EA (μm)	N
Sin lesiones	$10,2 \pm 3,9^a$	$215,3 \pm 94,9$	$98,5 \pm 40,8$	11
Tipo I	$17,9 \pm 21,9^a$	$261,5 \pm 91,1$	$148,1 \pm 50,6$	21
Tipo II	$21,7 \pm 18,4^a$	$224,7 \pm 127,1$	$103,3 \pm 50,5$	9
Tipo III o mayor	$195,1 \pm 209,4^b$	$467,8 \pm 369,2^c$	$159,9 \pm 88,1^d$	8

Valores dentro de una misma columna acompañados de literales iguales no son diferentes; ^a $P=0,00$; ^b $P=0,08$; ^c $P=0,14$ con respecto al grupo sin lesiones.

8.3 Volúmenes porcentuales de adipocitos, tejido miocárdico y vasos sanguíneos en muestras de miocardio y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras procesadas fue de 52.

8.3.1 Volumen porcentual de adipocitos asociados a paquetes vasculo-nerviosos

La media total \pm desvío estándar del volumen porcentual de adipocitos asociados a paquetes vasculo-nerviosos fue $0,15 \pm 0,22$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 3. No se detectaron diferencias entre cada uno de estos grupos.

8.3.2 Volumen porcentual de adipocitos asociados a miocardio banal

La media total \pm desvío estándar del volumen porcentual de adipocitos asociados a miocardio banal fue $0,47 \pm 0,68$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión se muestran en el cuadro 3. No se encontraron diferencias entre cada uno de estos grupos.

8.3.3 Volumen porcentual de tejido miocárdico

La media total \pm desvío estándar del volumen porcentual de tejido miocárdico fue $99,41 \pm 0,85$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión se presentan en el cuadro 3. No se hallaron diferencias entre cada uno de estos grupos.

8.3.4 Volumen porcentual de vasos

La media total \pm desvío estándar del volumen porcentual de vasos fue $0,76 \pm 0,71$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 3. No se detectaron diferencias entre cada uno de estos grupos.

8.4 Densidad de adipocitos y su relación con el tipo de lesión vascular

La media total \pm desvío estándar del número de adipocitos fue $71,17 \pm 92,63$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión se pueden observar en el cuadro 3. No hubo diferencias entre cada uno de estos grupos.

Cuadro 3: volúmenes porcentuales de adipocitos en paquetes vasculo-nerviosos y en miocardio banal, de miocardio y de vasos, y densidad de adipocitos en muestras de miocardio de perros.

CLASIF. LESIONES VASCULARES	Vol% Adip PVN	Vol% Adip MB	Vol% Miocardio	Vol% Vasos	Nro adipocitos	n
Sin lesiones	$0,18 \pm 0,27$	$0,39 \pm 0,61$	$99,48 \pm 0,84$	$0,83 \pm 0,56$	$66,4 \pm 91,5$	14
Tipo I	$0,10 \pm 0,14$	$0,54 \pm 0,77$	$99,37 \pm 0,89$	$0,71 \pm 0,84$	$69,8 \pm 92,9$	21
Tipo II	$0,17 \pm 0,34$	$0,42 \pm 0,59$	$99,48 \pm 0,9$	$0,55 \pm 0,78$	$72,4 \pm 89,4$	9
Tipo III o mayor	$0,18 \pm 0,16$	$0,46 \pm 0,77$	$99,35 \pm 0,77$	$1,01 \pm 0,51$	$81,5 \pm 114,1$	8

8.5 Densidad de capilares sanguíneos y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras procesadas fue de 51. Uno de los preparados histológicos tuvo que ser descartado por las alteraciones que presentaba, por lo que no se pudo realizar el conteo de capilares. La media total \pm desvío estándar del número de capilares fue $15,26 \pm 4,27$. Los valores para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 4. No se encontraron diferencias entre cada uno de estos grupos.

Cuadro 4: números de capilares relacionadas al tipo de lesión vascular en muestras de miocardio.

CLASIF. LESIONES VASCULARES	NÚMERO CAPILARES	n
Sin lesiones	$14,6 \pm 2,8$	14
Tipo I	$14,8 \pm 3,9$	21
Tipo II	$16,6 \pm 6,8$	8
Tipo III o mayor	$16,3 \pm 4,3$	8

8.6 Sexo del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 50. Hubo 2 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. Del porcentaje total, un 48% eran individuos machos y un 52% eran hembras. Los datos para cada sexo según el tipo de lesión se presentan en el cuadro 5. No hubo diferencias entre cada uno de estos grupos.

Cuadro 5: sexo y tipo de lesión vascular.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	MACHOS	HEMBRAS
Sin lesiones	8 (33,33%)	4 (15,38%)
Tipo I	8 (33,33%)	13 (50,00%)
Tipo II	4 (16,67%)	5 (19,23%)
Tipo III o mayor	4 (16,67%)	4 (15,38%)

8.7 Edad del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 51. Hubo una muestra que no se pudo evaluar por falta de datos brindados por el donante del cadáver. Del porcentaje total, 15,68% estaba en el rango etario de 0 a 2 años de edad, 27,45% entre 3 a 8 años y 56,86% eran mayores de 9 años. Los datos para cada grupo etario según el tipo de lesión se muestran en el cuadro 6. No hubo diferencias entre grupos etarios, sólo una débil tendencia ($P=0.18$).

Cuadro 6: rangos etarios y tipo de lesión vascular.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	0 a 2 años	3 a 8 años	≥ 9 años
Sin lesiones	5 (62,50%)	4 (28,57%)	4 (13,79%)
Tipo I	2 (25,00%)	6 (42,86%)	13 (44,83%)
Tipo II	0 (0,00%)	2 (14,29%)	7 (24,14%)
Tipo III o mayor	1 (12,50%)	2 (14,29%)	5 (17,24%)

8.8 Tamaño corporal del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 47. Hubo 5 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. Del porcentaje total, 27,6% tenía un tamaño corporal pequeño, 44,8% era mediano y 27,6% era grande. Los datos para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 7. No se encontraron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 7: tamaños corporales y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	PEQUEÑO (menos de 10kg)	MEDIANO (10-30kg)	GRANDE (mas de 30kg)
Sin lesiones	6 (46,15%)	5 (23,81%)	1 (7,69%)
Tipo I	4 (30,77%)	9 (42,86%)	6 (46,15%)
Tipo II	2 (15,38%)	4 (19,05%)	3 (23,08%)
Tipo III o mayor	1 (7,69%)	3 (14,29%)	3 (23,08%)

8.9 Estado de carnes del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 45. Hubo 7 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. Del porcentaje total, 22,2% tenía un estado de carnes caquéctico, 26,7% era delgado, 42,2% normal y 8,9% obeso. Los datos para cada grupo según el tipo de lesión se pueden observar en el cuadro 8. No hubo diferencias entre estos grupos.

Cuadro 8: estado de carnes y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	CAQUECTICO	DELGADO	NORMAL	OBESO
Sin lesiones	1 (10%)	3 (25%)	7 (36,8%)	1 (25%)
Tipo I	5 (50%)	5 (41,6%)	5 (26,3%)	1 (25%)
Tipo II	2 (20%)	1 (8,3%)	6 (31,5%)	0 (0%)
Tipo III o mayor	2 (20%)	3 (25%)	1 (5,2%)	2 (50%)

8.10 Tipo de alimentación del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 44. Hubo 8 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos confiables brindados por los propietarios de los perros. Del porcentaje total, 31,8% se alimentaban con una dieta casera, 31,8% con ración, y 36,4% combinaban una dieta casera con ración. Los datos de cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 9. No se detectaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 9: tipo de alimentación y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	CASERA	RACION	CASERA/RACION
Sin lesiones	4 (28,5%)	5 (35,7%)	3 (18,7%)
Tipo I	6 (42,8%)	5 (35,7%)	7 (43,7%)
Tipo II	2 (14,2%)	3 (21,4%)	3 (18,7%)
Tipo III o mayor	2 (14,2%)	1 (7,1%)	3 (18,7%)

8.11 Régimen de vida del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 43. Hubo 9 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos confiables brindados por los propietarios de los perros. Del porcentaje total, 4,6% tenían un régimen de vida con ejercicio reglamentado, 13,9% tenían vida libre, y 81,3% tenían un régimen de vida sedentario. Los datos para cada grupo según el tipo de lesión se observan en el cuadro 10. No se hallaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 10: régimen de vida y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	EJERCICIO REGLAMENTADO	LIBRE	SEDENTARIO
Sin lesiones	1 (50%)	0 (0%)	11 (31,4%)
Tipo I	1 (50%)	2 (33,3%)	15 (42,8%)
Tipo II	0 (0%)	2 (33,3%)	5 (14,2%)
Tipo III o mayor	0 (0%)	2 (33,3%)	4 (11,4%)

8.12 Temperamento del individuo y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 36. Hubo 16 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos confiables brindados por los propietarios de los perros. Del porcentaje total, 2,7% tenían un temperamento estresado, 8,3% eran hiperquinéticos, y 88,8% eran tranquilos. Los datos para cada grupo según el tipo de lesión están presentados en el cuadro 11. No hubo diferencias entre estos grupos.

Cuadro 11: temperamento y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	ESTRESADO	HIPERQUINETICO	TRANQUILO
Sin lesiones	0 (0%)	1 (33,3%)	11 (34,3%)
Tipo I	0 (0%)	2 (66,6%)	11 (34,3%)
Tipo II	1 (100%)	0 (0%)	5 (15,6%)
Tipo III o mayor	0 (0%)	0 (0%)	5 (15,6%)

8.13 Convivencia con fumadores y su relación con el tipo de lesión vascular

El número total de muestras evaluadas fue de 39. Hubo 13 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos confiables brindados por los propietarios de los perros. Del porcentaje total, 10,25% convivían con personas fumadoras, y un 89,75% no convivían con fumadores. Los datos para cada grupo según el tipo de lesión se presentan en el cuadro 12. No se detectaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 12: convivencia con fumadores y lesiones vasculares.

CLASIFICACIÓN DE LESIONES	SI	NO
Sin lesiones	1 (25%)	10 (28,5%)
Tipo I	2 (50%)	13 (37,1%)
Tipo II	0 (0%)	7 (20%)
Tipo III o mayor	1 (25%)	5 (14,2%)

8.14 Densidad de capilares en miocardio

8.14.1 Edad del individuo y su relación con la densidad de capilares

El número total de muestras evaluadas fue de 54. La media total del número de capilares fue $15,2 \pm 4,2$. Los valores para cada grupo etario según la densidad de capilares se presentan en el cuadro 13. No se hallaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 13: rangos etarios y números de capilares en muestras de miocardio.

EDAD	NÚMERO CAPILARES	N
0 a 2 años	$16,3 \pm 2,8$	11
3 a 8 años	$14,1 \pm 5,2$	15
≥ 9 años	$15,3 \pm 4,1$	28

8.14.2 Estado de carnes del individuo y su relación con la densidad de capilares

El número total de muestras evaluadas fue de 47. Hubo 7 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue $15,4 \pm 4,5$. Los valores para cada grupo según la densidad de capilares están presentados en el cuadro 14. No hubo diferencias entre estos grupos.

Cuadro 14: estado de carnes y números de capilares en muestras de miocardio.

ESTADO DE CARNES	NÚMERO CAPILARES	n
Caquéctico	$14,8 \pm 4,1$	11
Delgado	$16,2 \pm 5,4$	13
Normal	$15,5 \pm 4,5$	19
Obeso	$13,6 \pm 2,1$	4

8.14.3 Sexo del individuo y su relación con la densidad de capilares

El número total de muestras evaluadas fue de 52. Hubo 2 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue $15,2 \pm 4,3$. Los valores para cada sexo según la densidad de capilares se observan en el cuadro 15. No existieron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 15: sexo y números de capilares en muestras de miocardio.

SEXO	NÚMERO CAPILARES	n
Hembra	$14,5 \pm 3,8$	26
Macho	$15,9 \pm 4,7$	26

8.14.4 Tamaño corporal del individuo y su relación con la densidad de capilares

El número total de muestras evaluadas fue de 49. Hubo 5 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue $15,3 \pm 4,4$. Los valores para cada grupo según la densidad de capilares se presentan en el cuadro 16. No se detectaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 16: tamaño corporal y números de capilares en muestras de miocardio.

TAMAÑO	NÚMERO CAPILARES	n
Pequeño	$16,3 \pm 4,6$	14
Mediano	$14,8 \pm 4,4$	22
Grande	$14,9 \pm 4,3$	13

8.14.5 Régimen de vida del individuo y su relación con la densidad de capilares

El número total de muestras evaluadas fue de 44. Hubo 10 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de

remisión de materiales. La media total fue 15,3 ±4,1. Los valores para cada grupo según la densidad de capilares se visualizan en el cuadro 17. No hubo diferencias entre estos grupos.

Cuadro 17: régimen de vida y números de capilares en muestras de miocardio.

REGIMEN DE VIDA	NÚMERO CAPILARES	n
Ejercicio reglamentado	15,5 ±2,7	2
Libre	16,2 ±3,5	8
Sedentario	15,1 ±4,4	34

8.15 Densidad de adipocitos en miocardio

8.15.1 Edad del individuo y su relación con la densidad de adipocitos

El número total de muestras evaluadas fue de 56. La media total fue 66,6 ±90,7. Los valores para cada grupo etario según la densidad de adipocitos están presentados en el cuadro 18. Los grupos etarios de 3 a 8 años y ≥ 9 años tuvieron una densidad de adipocitos mayor al grupo etario de 0 a 2 años.

Cuadro 18: rangos etarios y densidad de adipocitos en muestras de miocardio.

EDAD	NUMERO ADIPOCITOS	n
0 a 2 años	15,5 ±18,6	12
3 a 8 años	80,8 ±116,4 [□]	15
≥ 9 años	80,4 ±88,5 [¶]	29

[□]P=0,18, tendencia leve a que los valores de las edades 0 a 2 años y 3 a 8 años sean diferentes.

[¶]P=0,11, tendencia moderada a que los valores de las edades 0 a 2 años y ≥9 años sean diferentes.

8.15.2 Estado de carnes y su relación con la densidad de adipocitos

El número total de muestras evaluadas fue de 49. Hubo 7 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue 65,9 ±89,6. Los valores para cada grupo según la densidad de adipocitos se muestran en el cuadro 19. No se encontraron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 19: estado de carnes y densidad de adipocitos en muestras de miocardio.

ESTADO DE CARNES	NUMERO ADIPOCITOS	n
Caquéctico	70 ±83,6	11
Delgado	75,9 ±107,1	14
Normal	48,5 ±58,9	20
Obeso	107,2 ±168,8	4

8.15.3 Sexo del individuo y su relación con la densidad de adipocitos

El número total de muestras evaluadas fue de 54. Hubo 2 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue 68,6 ±91,8. Los valores para cada

sexo según la densidad de adipocitos se observan en el cuadro 20. No hubo diferencias entre estos grupos.

Cuadro 20: sexo y densidad de adipocitos en muestras de miocardio.

SEXO	NUMERO ADIPOCITOS	n
Hembra	59,2 ±74,9	28
Macho	78,8 ±107,6	26

8.15.4 Tamaño corporal del individuo y su relación con la densidad de adipocitos

El número total de muestras evaluadas fue de 51. Hubo una muestra que no se pudo evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue 68,8 ±91,9. Los valores para cada grupo según la densidad de adipocitos están presentados en el cuadro 21. No se hallaron diferencias entre estos grupos.

Cuadro 21: tamaño corporal y densidad de adipocitos en muestras de miocardio.

TAMAÑO	NUMERO ADIPOCITOS	n
Pequeño	76,3 ±94,1	15
Mediano	49,2 ±66,9	23
Grande	94,8 ±123,1	13

8.15.5 Régimen de vida del individuo y su relación con la densidad de adipocitos

El número total de muestras evaluadas fue de 46. Hubo 10 muestras que no se pudieron evaluar por falta de datos en la reseña del individuo de la ficha de remisión de materiales. La media total fue 70,9 ±94,5. Los valores para cada grupo según la densidad de adipocitos se observan en el cuadro 22. No se encontraron diferencias entre estos grupos.

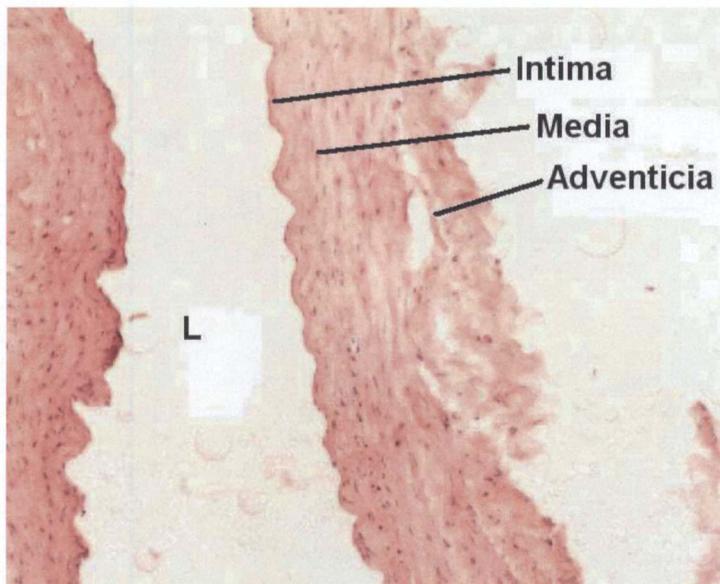
Cuadro 22: régimen de vida y densidad de adipocitos en muestras de miocardio.

REGIMEN DE VIDA	NUMERO ADIPOCITOS	n
Ejercicio reglamentado	127,5 ±180,3	2
Libre	40,8 ±56,8	8
Sedentario	74,4 ±97,5	36

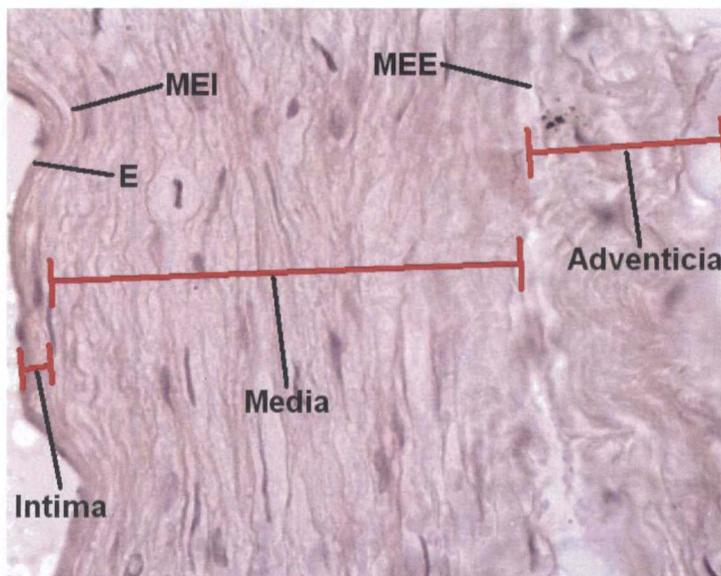
8.16 Clasificación de lesiones ateroscleróticas en coronarias de perros

Se realizó una clasificación histopatológica de las muestras evaluadas. A continuación se describen algunos ejemplos de los diferentes tipos de lesiones vasculares encontradas en este estudio, de acuerdo a la escala de la AHA.

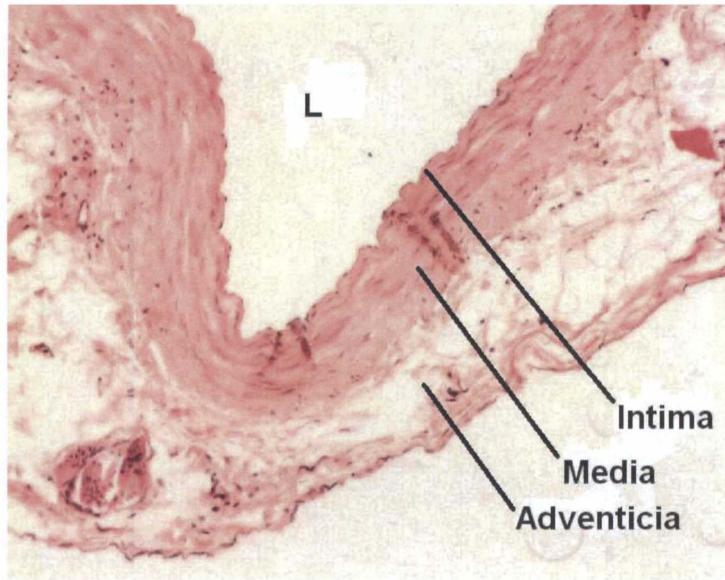
Pared vascular normal. Del total de muestras, hubo 11 en las que no se encontraron lesiones vasculares y fueron clasificadas como normales o sin lesión. Se muestran algunos ejemplos (fotografías 26 a 29) donde se observa la estructura morfológica normal de las capas arteriales.



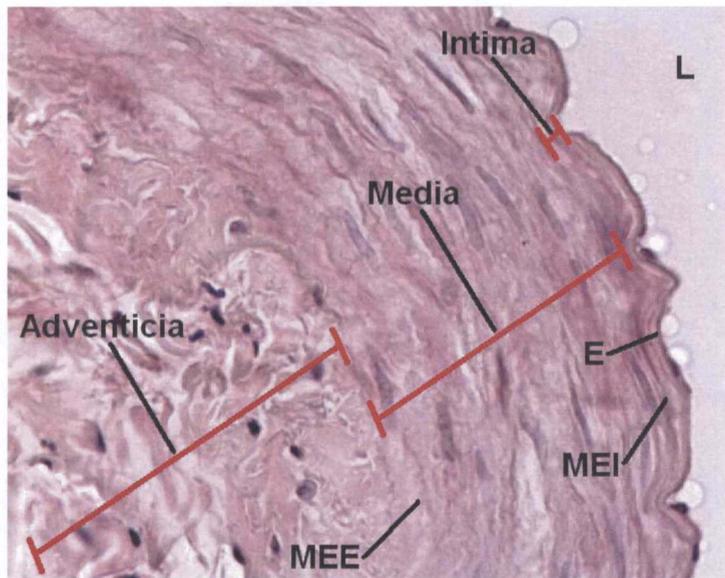
Fotografía 26: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente a la arteria paraconal de un perro cruzado de 13 años (código M27-6C19) que muestra la estructura de la pared vascular normal. Se señalan las tres capas (íntima, media y adventicia) que conforman la pared arterial. L: luz arterial.



Fotografía 27: imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) a mayor aumento correspondiente al mismo preparado de la fotografía anterior. Se observan las tres capas (íntima, media y adventicia) que componen la pared vascular. E: endotelio; MEI: membrana elástica interna; MEE: membrana elástica externa.

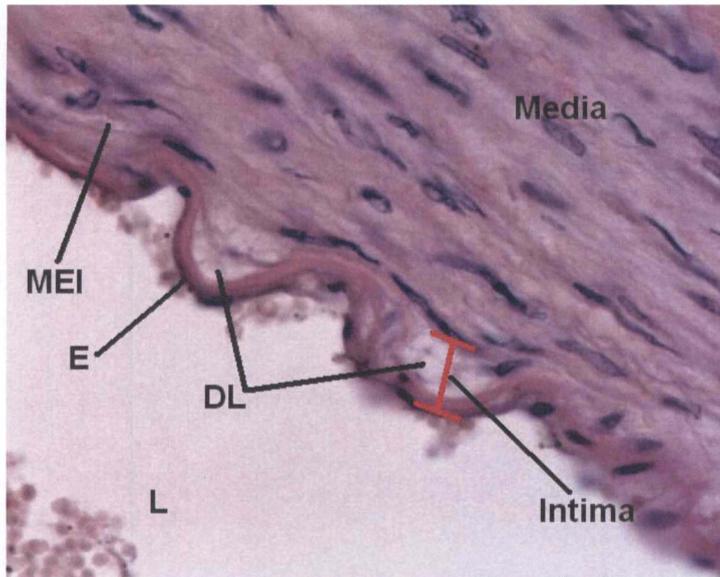


Fotografía 28: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina aumento original 100x) de la arteria paraconal de una perra cruzada de 5 años de edad (código H4-8B39) donde se vuelve a observar la estructura de la pared vascular normal. L: luz arterial.

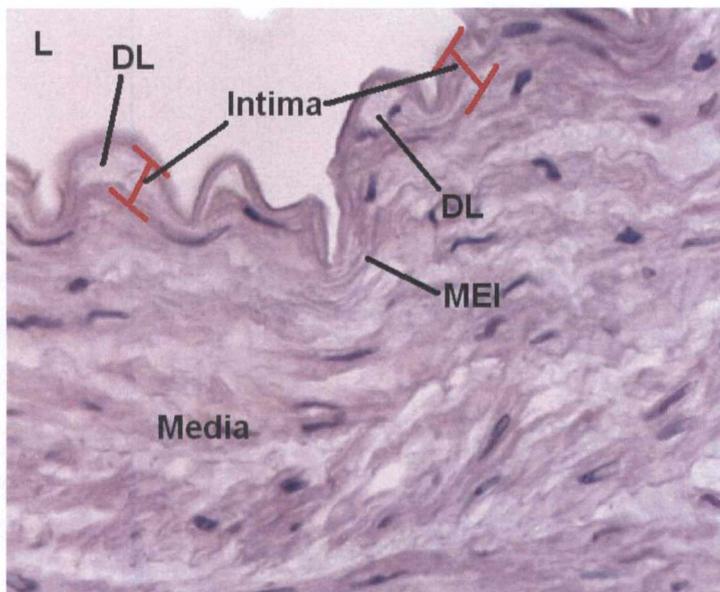


Fotografía 29: imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina aumento original 400x) a mayor aumento correspondiente al mismo preparado de la fotografía anterior. Se indican las tres capas que componen la pared vascular. E: endotelio. L: luz arterial. MEE: membrana elástica externa. MEI: membrana elástica interna.

Lesión tipo I (inicial). En las lesiones clasificadas como de tipo I, se pudo observar en la capa íntima la presencia de espacios claros que probablemente corresponden a pequeños depósitos lipídicos (fotografías 30 y 31) inmediatamente por debajo del endotelio. No se observó engrosamiento de ninguna de las capas arteriales.

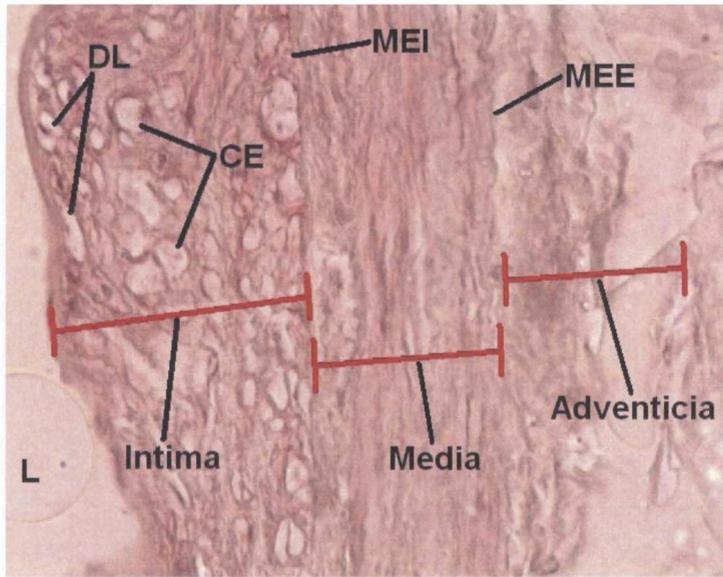


Fotografía 30: lesión tipo I (inicial). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de una porción de la arteria paraconal de una perra Pastor Alemán de 2 años y medio de edad (código H25-5A10). Se observan depósitos de lípidos (DL) en la capa íntima. E: endotelio. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

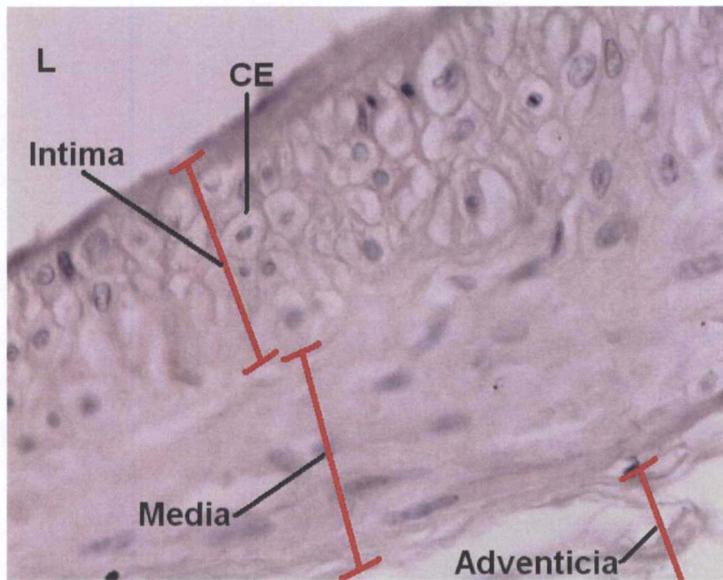


Fotografía 31: lesión tipo I (inicial). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de un sector de la arteria paraconal de un perro Pastor Alemán de 12 años de edad (código M12-6C16), donde se observan depósitos lipídicos (DL) en la capa íntima. E: endotelio. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

Lesión tipo II (estria grasa). Las lesiones clasificadas como tipo II presentaron aumento del espesor de la capa íntima; se observó en esta capa arterial la presencia de depósitos probablemente lipídicos similares a los hallados en las lesiones tipo I, y también células llenas de vacuolas grasas estratificadas en capas adyacentes, conocidas como células espumosas (fotografías 32 y 33).

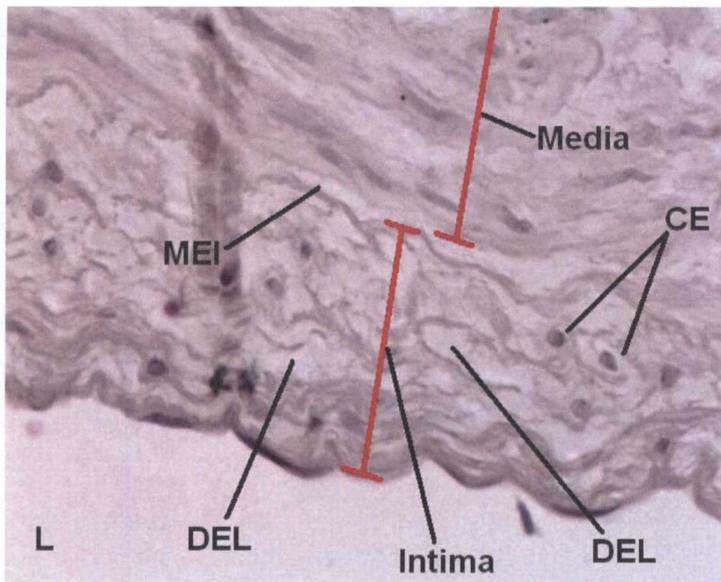


Fotografía 32: lesión tipo II (estria grasa). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de la arteria paraconal de un perro Cocker Spaniel de 10 años de edad (código M30-8C46), donde se observa el engrosamiento de la capa íntima y presencia de células espumosas. CE: célula espumosa. DL: depósito de lípidos. MEE: membrana elástica externa. MEI: membrana elástica interna. L: luz arterial.

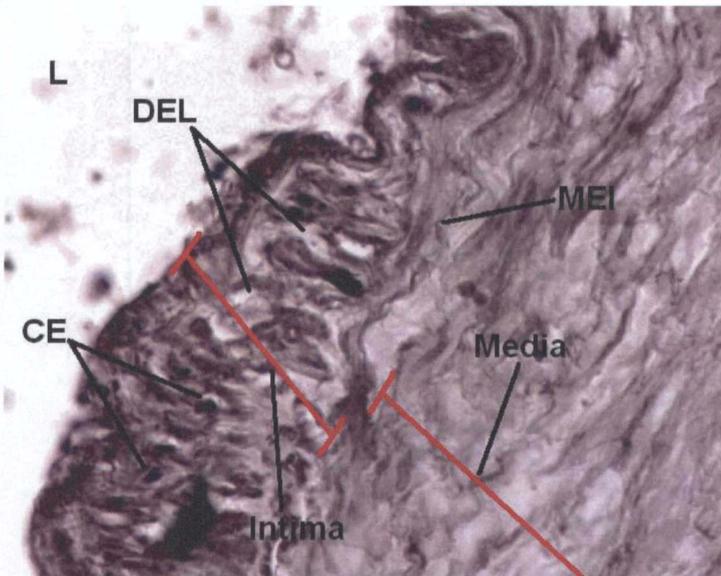


Fotografía 33: lesión tipo II (estria grasa). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de la arteria paraconal de una perra Pastor Alemán de 11 años de edad (código H12-9C48). CE: célula espumosa. L: luz arterial.

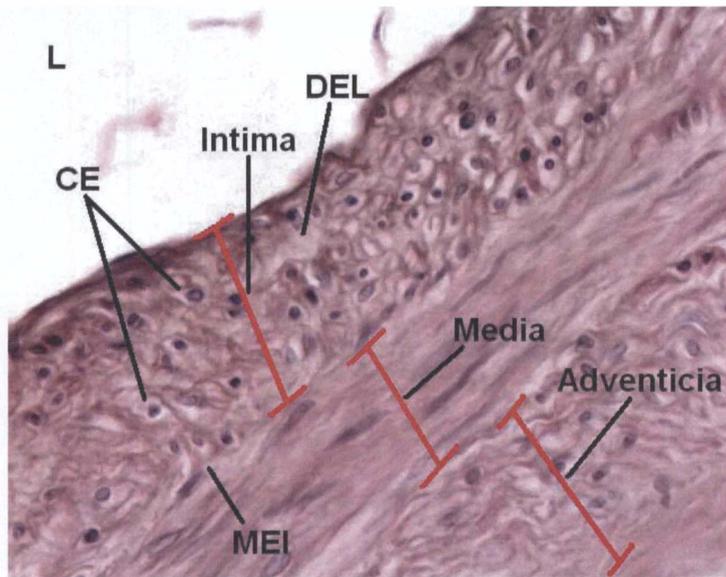
Lesión tipo III (intermedia). En las lesiones tipo III encontradas, se pudo observar un aumento del espesor de la capa íntima. También se observó una mayor presencia de partículas dispersas de lípidos extracelulares y células espumosas en la capa íntima (fotografías 34, 35 y 36).



Fotografía 34: lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de un sector de la arteria paraconal de una perra Mastín Napolitano de 9 años de edad (código H29-11C58), con un diagnóstico previo de osteosarcoma en hueso cigomático. Se observa engrosamiento de la capa íntima, partículas extracelulares de lípidos y presencia de células espumosas. DEL: depósito extracelular de lípidos. CE: célula espumosa. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

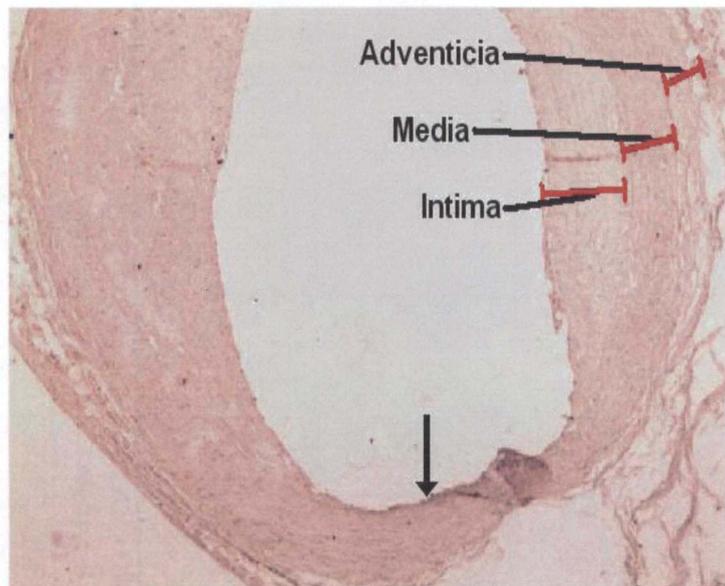


Fotografía 35: lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de una porción de la arteria paraconal de una perra Dálmata de 10 años de edad (código H11-10C53), con un diagnóstico presuntivo de proceso neoplásico en huesos de región coxo-femoral, previo a realizarse la eutanasia. DEL: depósito extracelular de lípidos. CE: célula espumosa. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

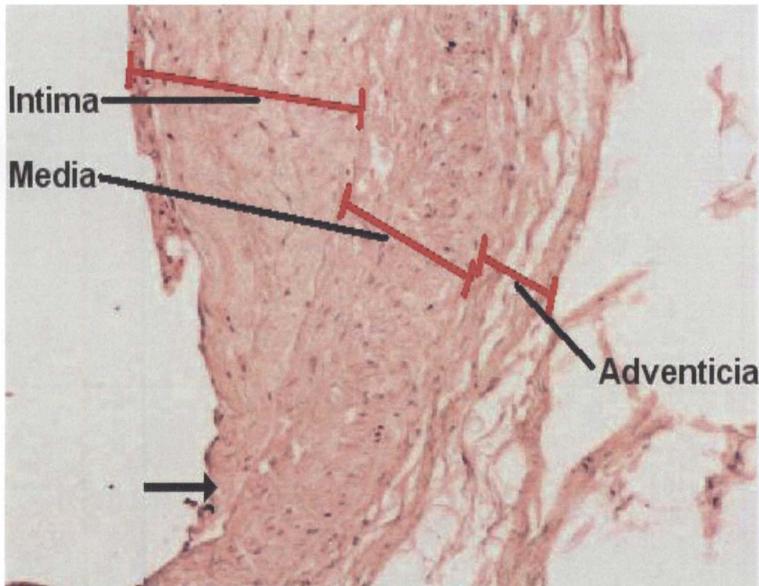


Fotografía 36: lesión tipo III (intermedia). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de un sector de la arteria paraconal de un perro Mastín Napolitano de 5 años de edad (código M7-9B47) con un cuadro clínico de ascitis y diagnóstico de cardiomiopatía dilatada previo a la eutanasia. DEL: depósito extracelular de lípidos. CE: célula espumosa. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

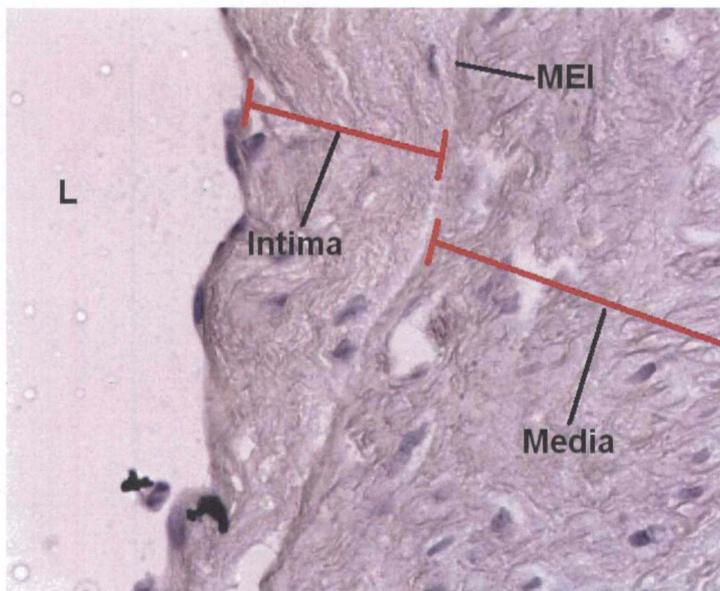
Lesión tipo IV (ateroma). En este tipo de lesión, se observó el correspondiente aumento en forma de media luna en el espesor de las capas arteriales (fotografías 37 a 39). En la capa íntima también se hallaron depósitos heterogéneos de lípidos extracelulares, y presencia de células espumosas.



Fotografía 37: lesión tipo IV (ateroma). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) de una región de la arteria paraconal de un perro Cocker Spaniel de 15 años de edad (código M13-9C49). Se puede observar el estrechamiento moderado de la luz arterial y el engrosamiento en forma de media luna de la capa íntima. La flecha señala el sector de la pared vascular que no presenta lesiones.

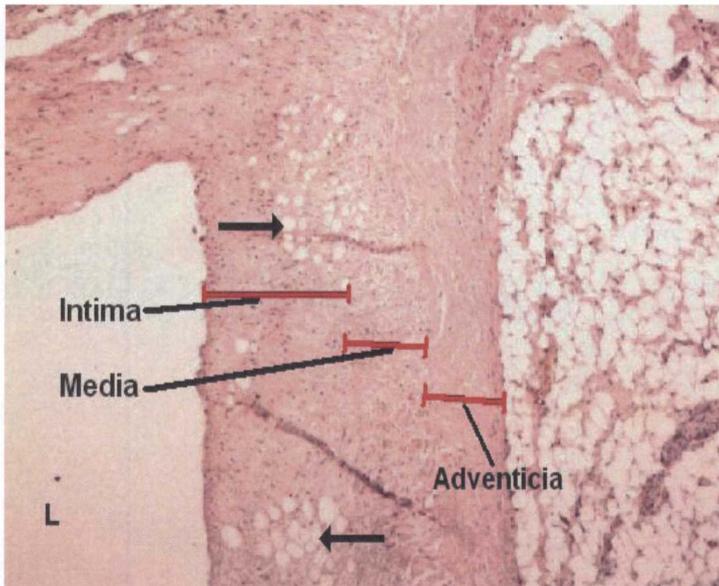


Fotografía 38: lesión tipo IV (ateroma). Imagen correspondiente al mismo preparado histológico (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) de la fotografía anterior. La flecha señala el segmento de la capa íntima donde comienza el engrosamiento adaptativo típico de este tipo de lesión.



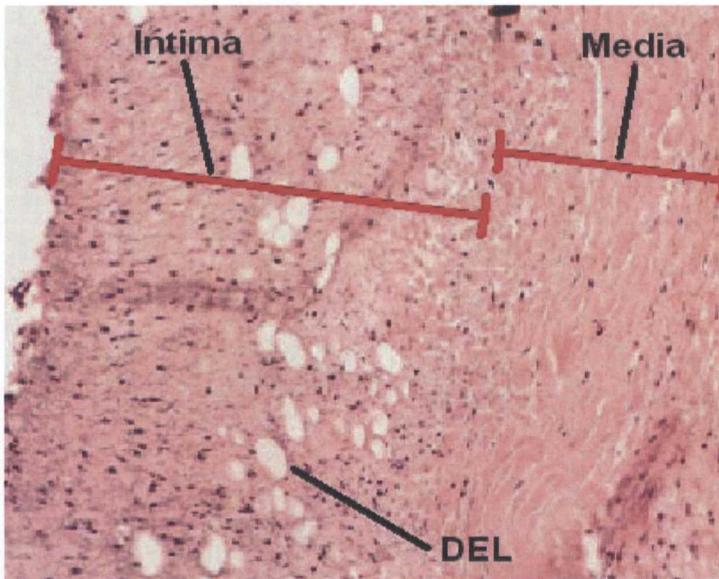
Fotografía 39: lesión tipo IV (ateroma). Imagen correspondiente al mismo preparado histológico (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) de las fotografías anteriores. L: luz arterial. MEI: membrana elástica interna.

Lesión tipo V (fibroateroma). En esta lesión se encontró un aumento considerable en el espesor y presencia de una gran acumulación de lípidos extracelulares en la capa íntima (fotografías 40 a 42). También se destaca un engrosamiento de las capas media y adventicia.

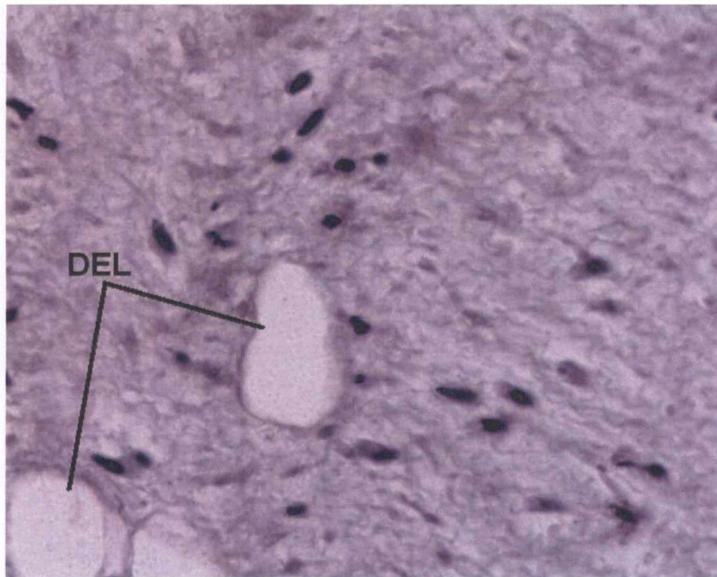


Facultad de Medicina
 Depto. Doc.

Fotografía 40: lesión tipo V (fibroateroma). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) de la arteria paraconal de una perra Fox Terrier de 13 años y medio de edad (código H15-5C05) con un cuadro clínico de uremia e insuficiencia cardíaca congestiva previa al fallecimiento. Se observa un acentuado engrosamiento de la capa íntima. Las flechas señalan los depósitos extracelulares de lípidos acumulados en la íntima, que posteriormente formarán el núcleo lipídico. L: luz arterial.

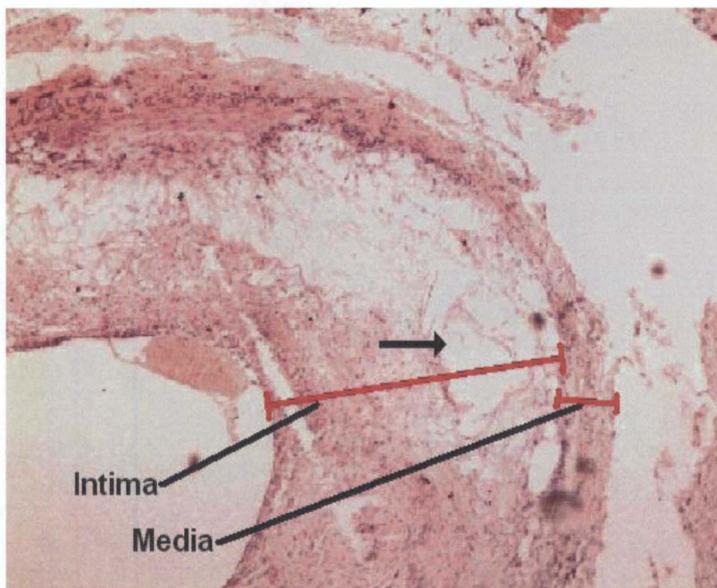


Fotografía 41: lesión tipo V (fibroateroma). Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al mismo preparado histológico de la fotografía anterior. En la capa íntima se observa una proliferación celular considerable y la formación de los depósitos extracelulares de lípidos (DEL).

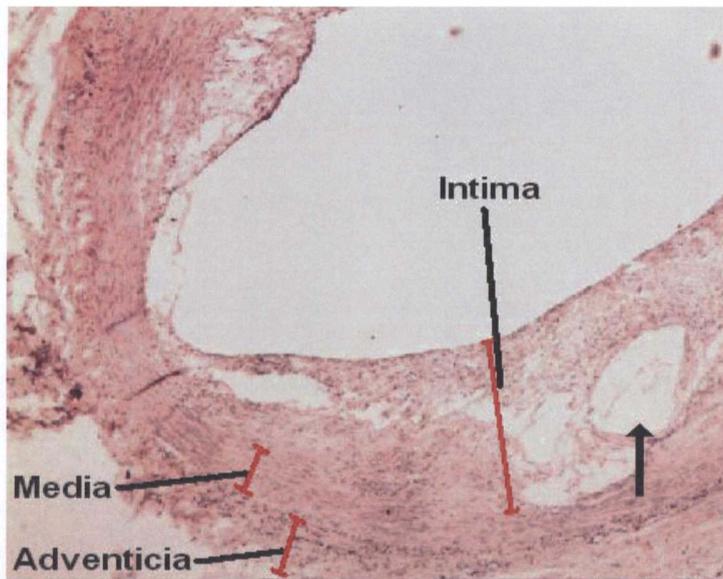


Fotografía 42: lesión tipo V (fibroateroma). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) correspondiente al mismo preparado de las dos fotografías anteriores. Se visualiza un sector de la capa íntima, con la proliferación celular y depósitos extracelulares de lípidos (DEL).

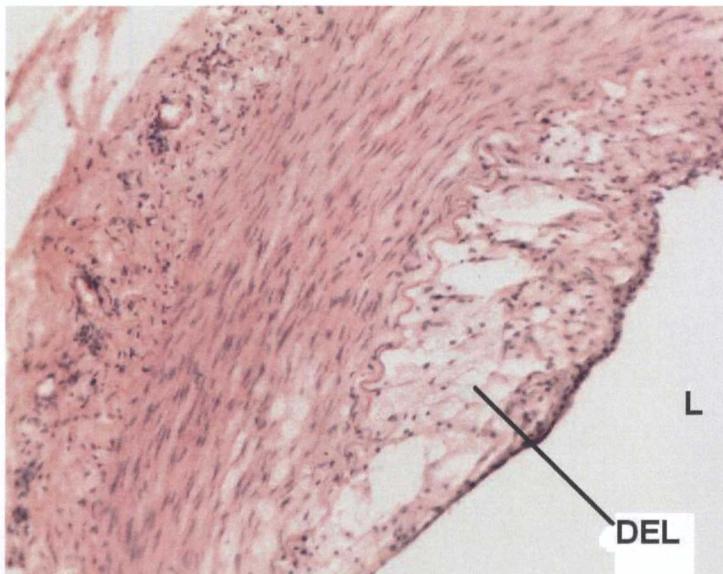
Lesión tipo VI (complicada). En la lesión clasificada como complicada se observó un importante aumento en el espesor de la capa íntima; a su vez también se encontró la presencia de núcleos lipídicos y el desarrollo de amplios depósitos extracelulares de lípidos en la íntima (fotografía 43 a 47).



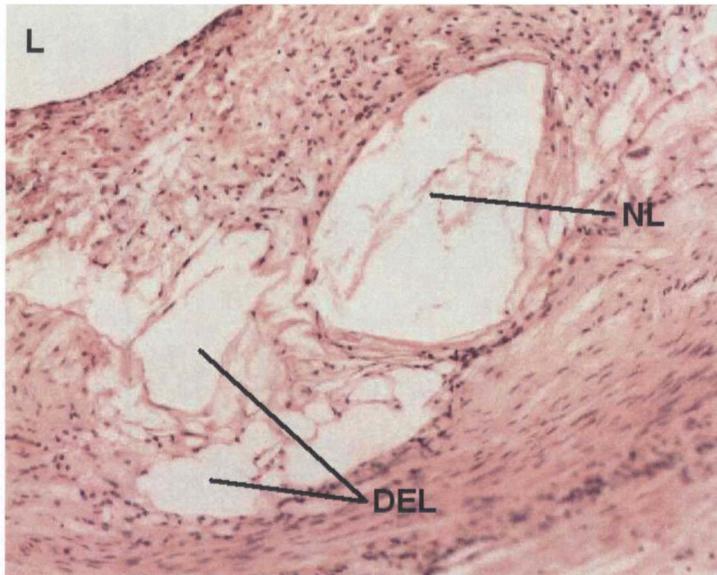
Fotografía 43: lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) de la arteria paraconal de un perro Fila de 8 meses de edad (código M13-6A17) con un diagnóstico de infección por *Neospora caninum* previo a realizarse la eutanasia. Se observa el engrosamiento pronunciado de la capa íntima, la formación de un gran núcleo lipídico (flecha) y proliferación celular en las capas íntima y media.



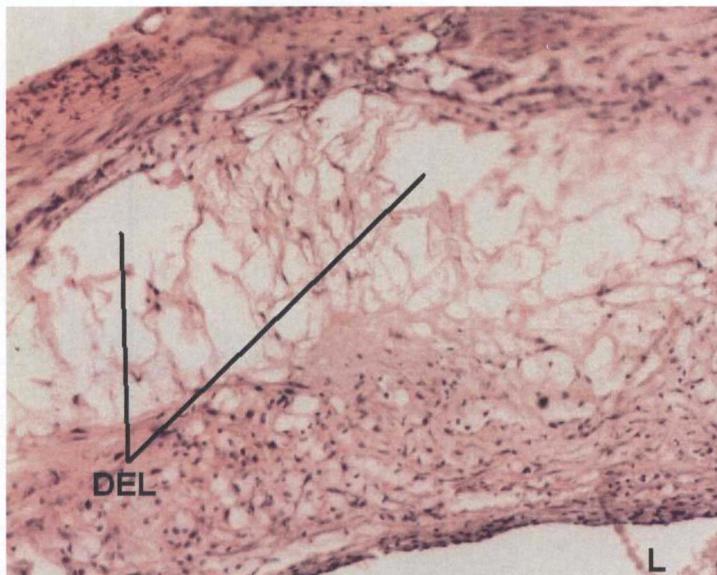
Fotografía 44: lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) de otro sector de la misma arteria de la fotografía anterior. La flecha señala la formación de un núcleo lipídico.



Fotografía 45: lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) a mayor aumento de otro sector de la misma arteria de las fotografías anteriores. Se observa la presencia de depósitos extracelulares de lípidos (DEL) en la capa íntima arterial. L: luz arterial.



Fotografía 46: lesión tipo VI (complicada). Imagen histológica (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) a mayor aumento del núcleo lipídico señalado en la fotografía 44. También se visualiza la formación de varios depósitos extracelulares de lípidos (DEL) en la capa íntima y la gran proliferación celular en esta región. L: luz arterial.

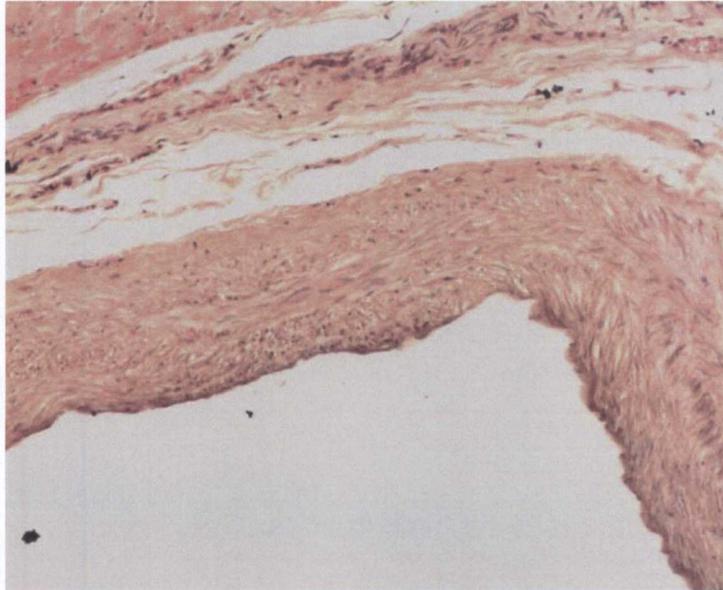


Fotografía 47: lesión tipo VI (complicada). Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) de otro sector de la pared arterial correspondiente a los mismos preparados histológicos anteriores. Se señala la confluencia de varios depósitos extracelulares de lípidos (DEL) en la capa íntima, que posteriormente formarían un núcleo lipídico. Se visualiza también la gran proliferación celular en las capas íntima y media. L: luz arterial.

8.17 Descripción individual de los casos con lesiones vasculares tipo III o mayor

En el total de muestras evaluadas, 8 individuos presentaron lesiones vasculares tipo III o mayor. Por considerar que estos casos son de particular interés, a continuación se describe cada uno de estos casos:

- **M7-9B47:** macho cruzado Mastín Napolitano, tamaño grande, caquéctico, 5 años de edad. Dieta a base de ración comercial balanceada. Régimen de vida libre, temperamento tranquilo, no convivía con fumadores. Previo a realizarse la eutanasia, el paciente presentaba ascitis y existía un diagnóstico presuntivo de cardiomiopatía dilatada. Se halló una lesión vascular tipo III. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 56,8 μm , media 337,3 μm y adventicia 131,4 μm .



Fotografía 48: lesión tipo III. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al individuo M7-9B47. Se observa la pared vascular afectada, con el característico aumento del espesor de la capa íntima.

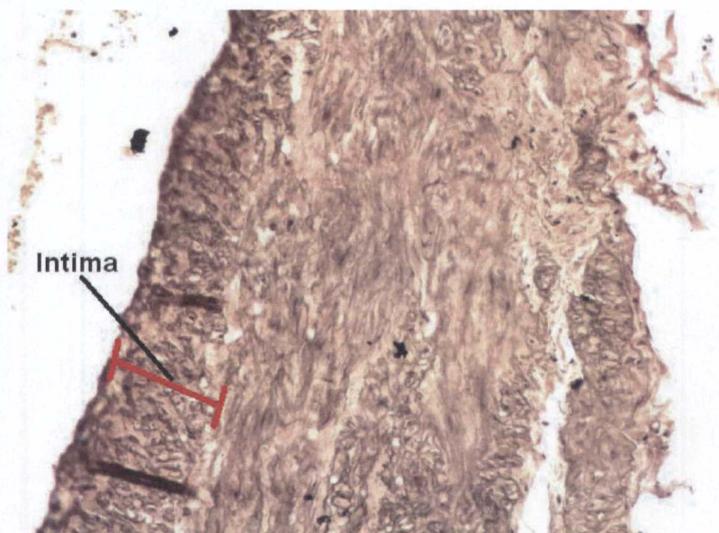


Fotografía 49: lesión tipo III. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior. Se indica el espesor de la capa íntima.

- **H9-10C53:** hembra raza Dálmata, 25kg de peso, delgada, 10 años de edad. Dieta casera y ración. Régimen de vida sedentario, temperamento

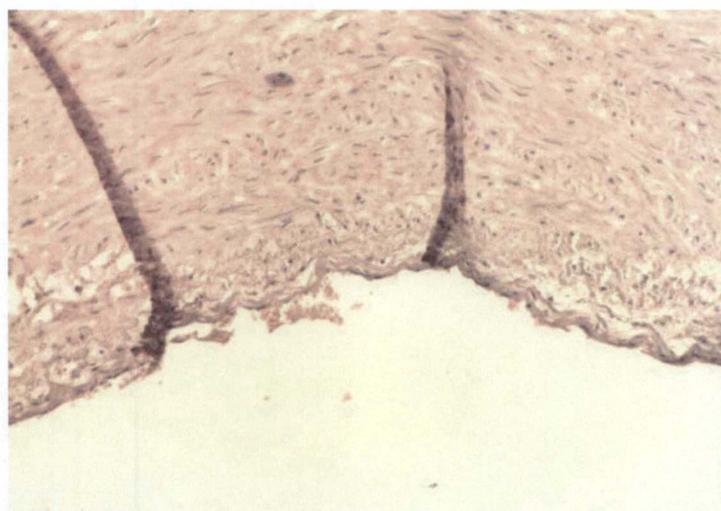
tranquilo, convivía con fumadores. Previo a la eutanasia, se había realizado un diagnóstico de neoplasia ósea en huesos de región coxo-femoral.

Se encontró una lesión vascular tipo III. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 88.5 μm , media 426.5 μm y adventicia 96.8 μm .

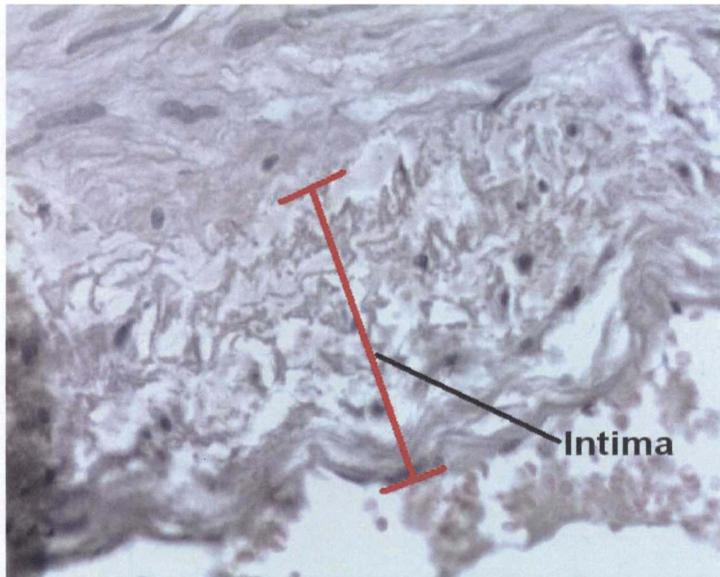


Fotografía 50: lesión tipo III. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al individuo H9-10C53.

- **H29-11C58:** hembra raza Mastín Napolitano, tamaño grande, 9 años de edad. Estado de carnes caquéctico, dieta a base de ración, régimen de vida sedentario, temperamento tranquilo, no convivía con fumadores. Se había diagnosticado un osteosarcoma primario diseminado en hueso cigomático con metástasis previo a practicarse la eutanasia. Se observó una lesión vascular tipo III. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 10.4 μm , media 420.6 μm y adventicia 148.1 μm .

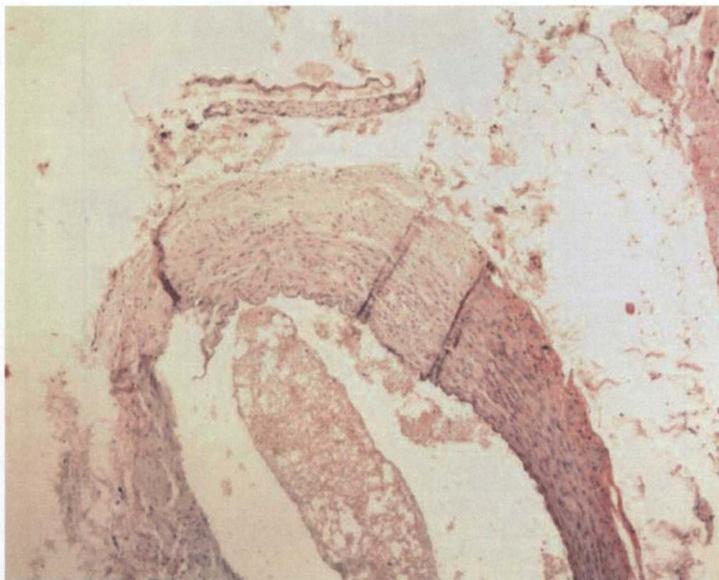


Fotografía 51: lesión tipo III. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al individuo H29-11C58.

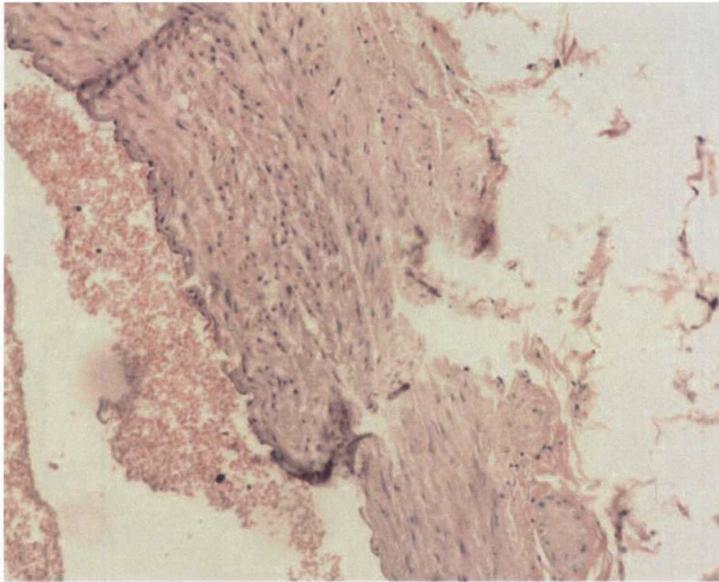


Fotografía 52: lesión tipo III. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior. Se indica el aumento del espesor de la capa íntima; también se pueden observar depósitos extracelulares de lípidos en esta capa.

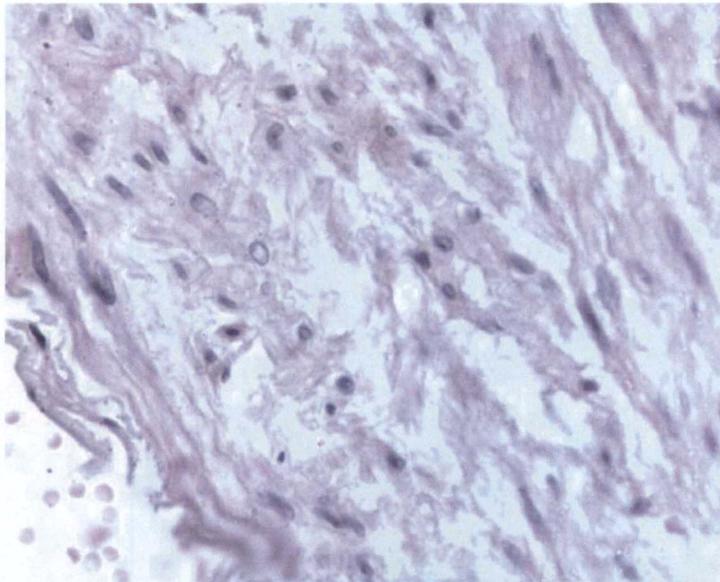
- **H30-5C13:** hembra cruzada, 20kg de peso, obesa, 10 años de edad, dieta casera, régimen de vida libre, no convivía con fumadores, sin datos sobre el temperamento. Previo a realizarse la eutanasia se había diagnosticado un tumor venéreo transmisible. Se encontró una lesión tipo IV en la arteria paraconal. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 9.1 μm , media 264.3 μm y adventicia 166.2 μm .



Fotografía 53: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) correspondiente al individuo H30-5C13. En este caso se observa un engrosamiento en forma de media luna en la capa media.

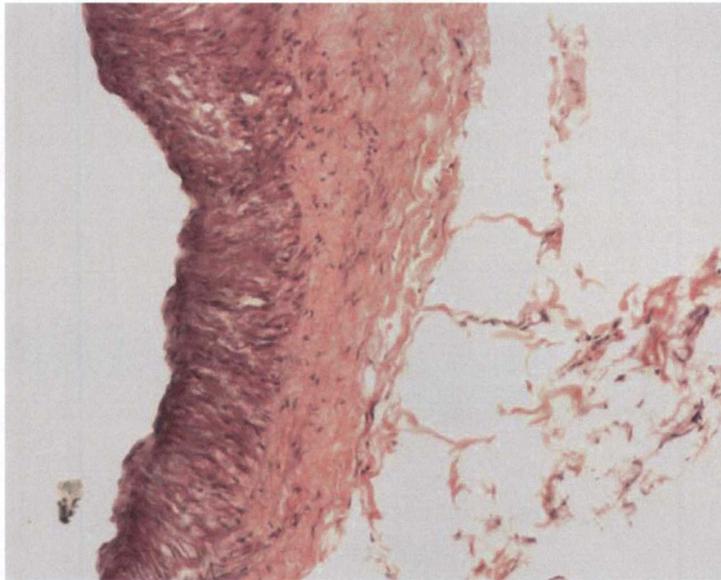


Fotografía 54: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior.



Fotografía 55: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 400x) correspondiente al mismo individuo de las fotografías anteriores.

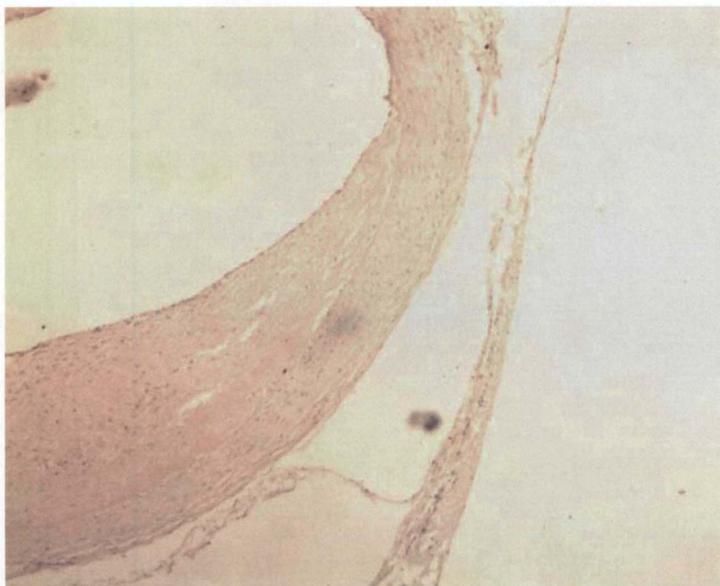
- **M5-7B22:** macho raza Basset Hound, 35kg de peso, obeso, 8 años de edad, régimen de vida sedentario, dieta a base de ración, temperamento tranquilo, no convivía con fumadores. Padecía una neoplasia testicular con metástasis avanzada, razón por la cual los propietarios solicitaron realizar la eutanasia del paciente.
Se encontró una lesión tipo IV en la arteria paraconal. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 63.9 μm , 121.5 media μm y adventicia 76.6 μm .



- FACI
Depto. Do

Fotografía 56: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al individuo M5-7B22. Se observa una capa íntima con un considerable aumento de su espesor.

- **M13-9C49:** macho raza Cocker, 10kg de peso, delgado, 15 años de edad. Dieta casera, régimen de vida sedentario, temperamento tranquilo, no convivía con fumadores. Presentaba un cuadro clínico de neoplasias en piel previo a la eutanasia. Se halló una lesión vascular tipo IV. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 435.5 μm , media 150.9 μm y adventicia 90.8 μm .



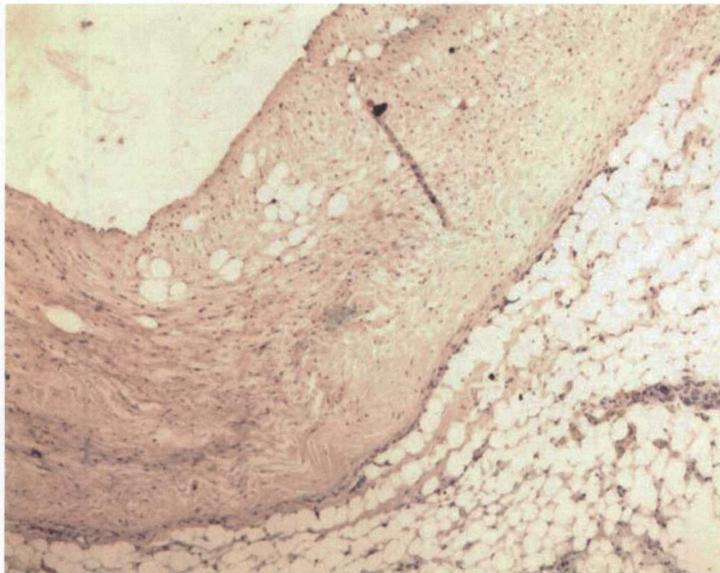
Fotografía 57: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) correspondiente al individuo M13-9C49. Se aprecia una porción de la pared vascular con el engrosamiento en forma de media luna de la capa íntima.



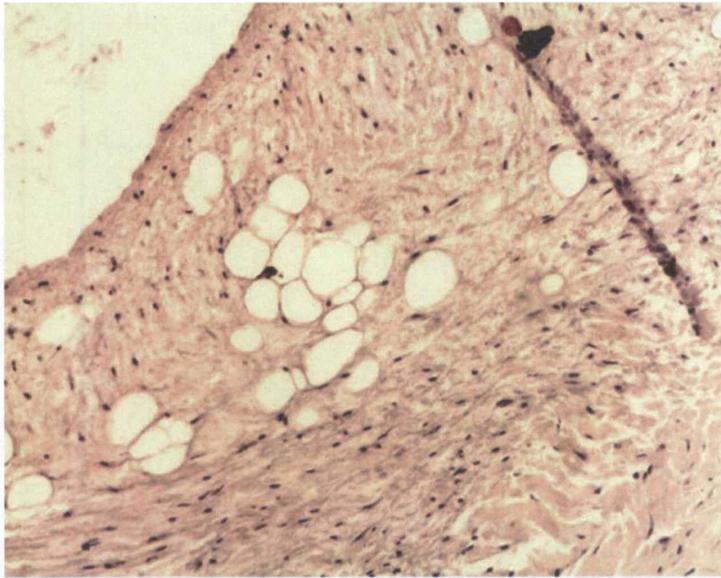
Fotografía 58: lesión tipo IV. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 100x) correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior. Se indica el considerable aumento en forma de media luna de la capa íntima.

- **H15-5C5:** hembra raza Fox Terrier, 8kg de peso, delgada, 13 años y medio de edad. No se pudieron obtener datos del tipo de dieta, régimen de vida, temperamento y convivencia o no con fumadores. Previo a realizarse la eutanasia presentaba un cuadro clínico de uremia, y previamente se había diagnosticado una insuficiencia cardíaca congestiva.

Se encontró una lesión tipo V en la arteria paraconal. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 399.6 μm , media 720.8 μm y adventicia 341.8 μm .



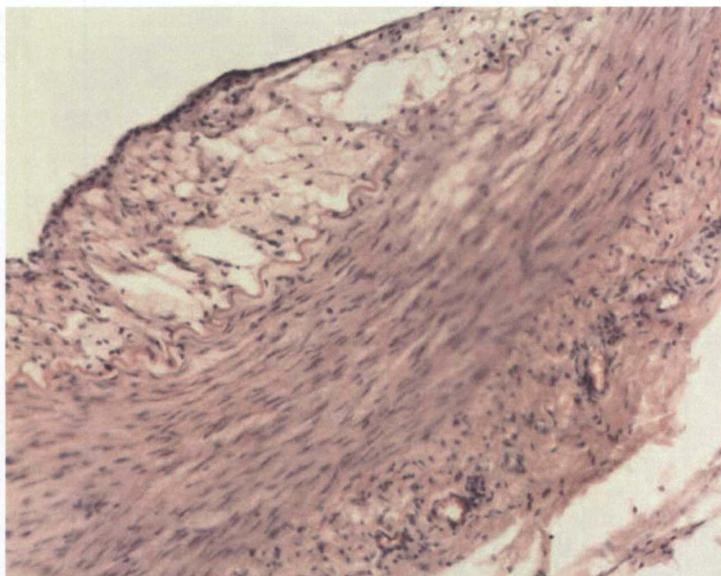
Fotografía 59: lesión tipo V. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento original 40x) correspondiente al individuo H15-5C5. Se observa un sector de la pared arterial con un aumento pronunciado del espesor de las capas íntima y media. También se aprecian depósitos lipídicos en la capa íntima.



Fotografía 60: lesión tipo V. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento 100x) correspondiente al mismo individuo de la fotografía anterior. Se observan los depósitos lipídicos en la capa íntima.

- **M13-6A17:** macho raza Fila, 8 meses de edad, estado de carnes normal. No se pudieron obtener datos del tipo de alimentación, régimen de vida, temperamento y convivencia o no con fumadores. Antes de realizarse la eutanasia, se había diagnosticado una infección por *Neospora*.

Se halló una lesión tipo VI en la arteria paraconal. Los espesores de las capas arteriales fueron: íntima 496.5 μm , 384.1 media μm y adventicia 227.3 μm .



Fotografía 61: lesión tipo VI. Imagen (tinción hematoxilina-eosina; aumento 100x) correspondiente al individuo M13-6A17. Se observa el engrosamiento pronunciado de las capas íntima y media. A su vez se pueden apreciar los depósitos extracelulares de lípidos y la gran proliferación celular en la capa íntima.

9. DISCUSION

Los resultados presentados en esta tesis son, hasta donde sabemos, la primera vez que un estudio de campo estudia la prevalencia de lesiones ateroscleróticas en vasos coronarios principales de perros cuyo motivo de fallecimiento diagnosticado no fue dicho tipo de lesiones. Por otra parte, se demuestra que dichas lesiones son frecuentes en perros.

Nuestro estudio se puede considerar como la primera etapa de un proyecto más amplio, el cual debería abarcar un muestreo mayor de individuos, del que se podrá extraer, probablemente, mayor cantidad de conclusiones. El presente trabajo no incluyó mayor número de muestras debido a las limitaciones en tiempo y cantidad de trabajo que se pueden aplicar razonablemente a una tesis de grado. De todas maneras, este muestreo nos permitió encontrar algunos datos de sumo interés. Es importante destacar que se observó un alto porcentaje de individuos que presentaron algún tipo de lesión vascular. El haber hallado 77,5% de animales con lesiones coronarias es un hecho relevante, que desafía fuertemente la noción generalizada que considera a las lesiones coronarias en los perros como un hallazgo poco frecuente y de escasa relevancia epidemiológica. Por otra parte, del total de lesiones encontradas, y tomando en cuenta la clasificación utilizada, la mayoría correspondieron a lesiones iniciales (tipo I), microscópicas, que constituyeron el 42,8% de los animales estudiados y el 55,3% de los animales en los que se hallaron lesiones. Sin duda, las lesiones del tipo I son asintomáticas y no tienen mayor relevancia clínica, pero al menos indican la existencia frecuente de procesos de aterosclerosis en fases incipientes. Dentro del grupo de individuos que presentaron lesiones, debemos resaltar el hallazgo de lesiones tipo II, que también son iniciales y probablemente no tienen consecuencias clínicas a corto plazo, pero pueden implicar una evolución del proceso patológico y más relevante aún, el hallazgo de lesiones avanzadas, de tipo III o mayor; estas últimas representaron el 16,3% del total de animales muestreados y el 21,1% de los afectados por lesiones vasculares. Las lesiones de tipo III o mayor sí son lesiones que pueden tener algún significado clínico, tales como arritmias y tal vez algunos casos de muertes súbitas, que no tienen diagnóstico, se expliquen por la presencia de lesiones tipos V o VI.

Uno de los desafíos que se presentaron en este trabajo fue el de realizar una clasificación estandarizada y acorde con las lesiones vasculares encontradas en perros, ya que no existe una clasificación específica para esta especie; para esto se tuvieron en cuenta las características tisulares e histopatológicas comparables a las de los seres humanos. Se utilizó la clasificación de la American Heart Association (Stary y col., 1995), ya que es una clasificación ampliamente usada, validada y reconocida mundialmente para este tipo de lesiones en humanos. En nuestro estudio se encontraron diferentes grados de lesiones vasculares, las cuales coincidían con las lesiones descritas en la clasificación de la AHA, tal como se puede comprobar al comparar las lesiones descritas en la bibliografía existente y las lesiones encontradas en el presente trabajo; éste es un fundamento que avala la utilización de este método de clasificación. Tal vez la mayor dificultad haya estado en la interpretación de las lesiones de tipo I (iniciales). Es posible que en algunos casos se tratara de artefactos de técnica histológica, ya que debido al tipo de procesamiento de muestras aplicado (inclusión en parafina) no es posible demostrar

fehacientemente que las microlesiones contenían lípidos, y la clasificación se limitó a registrar las microlesiones que tenían aspecto de lesiones tipo I. Sin embargo, consideramos muy improbable que el número de falsos positivos sea alto.

En el estudio de los espesores de las diferentes capas arteriales, se determinaron diferencias importantes en la capa íntima de las lesiones tipo III o mayor respecto a los demás tipos de lesiones. Este hallazgo confirma lo descrito para los seres humanos por algunos autores (Davies, 1997, Fuster y col., 1997, Schoen y Cotran, 2000), que describen la reparación de la pared vascular lesionada como una respuesta curativa fisiológica con formación de una neoíntima, que incluye multiplicación de células, emigración de células musculares lisas desde la media y depósito de matriz extracelular.

En la comparación del espesor de la capa media entre lesiones de distinto tipo, las lesiones tipo III o mayor tendieron a tener mayor espesor que los demás tipos de lesiones. Este hallazgo está confirmado por diversos autores (Clark y Glavo, 1979, Okamoto y col., 1996, Allaire y Clowes, 1997) pero en la especie humana, los cuales plantean que en una lesión de la pared arterial, las células musculares lisas de la capa media pierden su poder contráctil, entran en mitosis, aumentan la síntesis y secreción de proteínas y matriz extracelular, y adquieren la capacidad migratoria para invadir la capa íntima. Tal vez la tendencia encontrada no resultó en una diferencia significativa debido al número relativamente escaso de animales estudiados.

Se observó una débil tendencia a un mayor espesor de la capa adventicia en las lesiones tipo III o mayor. Según Hehrlein y col. (1995) se ha observado que una lesión que afecta a la capa adventicia y media, estimula la producción de matriz extracelular, pero no la proliferación de las células. En otro estudio (Csányi y col., 2009) se observó cómo varios factores asociados a la inflamación, tales como citocinas, lípidos y hormonas estimulan tanto la proliferación y migración de fibroblastos, lo cual deriva en el aumento del espesor de la adventicia; a su vez, plantea que se forma una red más densa de *vasa vasorum* en esta capa. Este aumento en la vascularización permite una mayor presencia de células inflamatorias en la adventicia. Nuestros resultados con respecto al espesor de la adventicia en perros también concuerdan con la bibliografía internacional en humanos, y vale también la especulación sobre la falta de significancia que se hizo para el espesor de la media.

En el presente trabajo se estudiaron determinadas variables debido a que las mismas fueron estudiadas en humanos como factores predisponentes de lesiones vasculares. Las mismas incluyeron edad, sexo, tamaño, estado de carnes, tipo de dieta, régimen de vida, temperamento y convivencia con fumadores. En nuestro muestreo no hubo relación entre estas variables y el tipo de lesión vascular. En la bibliografía encontrada, diversos autores concluyen que existe una clara relación entre algunas de estas variables planteadas y las lesiones vasculares.

Con respecto a la edad, Haidet y col. (1996), Kagawa y col. (1998) y Kass (2002) encontraron que a mayor edad, aumenta la predisposición a las lesiones vasculares en perros. Es de destacar que en todos estos casos, se trató de diseños experimentales en los que un número reducido de perros fueron tratados a largo plazo, bajo condiciones altamente controladas, con dietas muy ricas en lípidos, por lo que tal vez nuevamente pueda atribuirse el no haber

detectado influencia de la edad en nuestros resultados, al número relativamente escaso de animales estudiados, sumado a que muchas veces los datos aportados por dueños y veterinarios tratantes pueden tener inexactitudes. En perros, la influencia del sexo indica que existe una mayor predisposición a las lesiones vasculares en individuos machos (Kagawa y col., 1998), debido a que los estrógenos ejercen un papel ateroprotectivo (Billon-Galés, 2009); no se encontraron estudios sobre el sistema cardiovascular de la perra ovariectomizada (Bellino, 2000). Sin embargo, nosotros no hemos encontrado ninguna influencia del sexo. Aunque esta variable seguramente no está sujeta a errores de diagnóstico, tal vez pueda atribuirse la ausencia de diferencias al número de sujetos estudiados. Es de esperar que la castración elimine el efecto ateroprotector de los estrógenos, y al no poder detectar todas las perras castradas con total seguridad en nuestro estudio, este factor puede también haber influido en la variable que estamos discutiendo ahora.

En el estudio del estado de carnes, Kagawa y col. (1998) y German (2006) plantean que la obesidad es un factor predisponente de lesiones vasculares en perros. No se encontraron fuentes que establezcan una relación entre el estado caquéctico y las lesiones vasculares.

Con respecto al tipo de dieta, los autores citados (Mahley y Weisgraber, 1974, Nandan y col., 1975, Liu y col., 1986, Kagawa y col., 1998, y Hess y col., 2003) coinciden que dietas que generen una marcada hiperlipidemia son un factor predisponente de lesiones vasculares en perros. No se hallaron fuentes que establezcan una relación entre el consumo de una dieta determinada a base de ración balanceada, casera o mixta con las lesiones vasculares, quizá debido a la imposibilidad de estandarizar el contenido lipídico de cada una de ellas.

En el estudio del régimen de vida, se cita a la actividad física regular como un factor beneficioso para evitar el desarrollo de lesiones vasculares en humanos (Helmrich y col., 1991, Marrugat y col., 1996, y Arquer y col., 2010) y animales (Viinikka y col., 1984, y Kanter y col., 1993). Un dato que se desprende de esto es que el sedentarismo es un factor predisponente de lesiones vasculares. Aunque se registró la información disponible sobre el régimen de vida de los perros estudiados, seguramente esta información tenía márgenes de error importantes, debido a la falta de objetivización de la actividad y, por otra parte, el número de animales con actividad física regular fue muy pequeño.

Con respecto a la convivencia del perro con humanos fumadores (perro fumador pasivo), no hay datos concluyentes de su efecto en perros. En humanos, están ampliamente comprobados los efectos cardiovasculares nocivos en fumadores activos y pasivos (Stefanadis y col., 1997, McGill Jr., 1988, Pittilo, 2000, Barua y col., 2001, Mahmud y Feely, 2003, Brunner y col., 2005, y Erhardt, 2009). En nuestro estudio, caben las consideraciones hechas anteriormente para el estudio del régimen de vida y la actividad física regular.

En los estudios del tamaño corporal y el temperamento no se encontró bibliografía que aporte datos y los relacione con las lesiones vasculares en el perro, y en nuestra investigación no hemos podido demostrarlo.

En nuestro estudio no se encontró diferencias en la densidad de capilares y adipocitos en miocardio, ni en los volúmenes porcentuales de adipocitos asociados a PVN y MB, tejido miocárdico y vasos, con respecto a los tipos de lesiones vasculares. No se encontraron fuentes bibliográficas que relacionen estas variables en ninguna especie.

En cuanto al estudio de la densidad de capilares, no se encontraron diferencias en las relaciones con respecto a edad, estado de carnes, sexo, tamaño corporal y régimen de vida. Tomanek (1991) en perros y Rakusan (1999) en humanos, sugieren que la densidad de capilares en miocardio disminuye con la edad; consideramos importante destacar que en los perros, la expectativa de vida difiere ampliamente con la raza, por lo que la edad a considerar no es exclusivamente la cronológica. Otro estudio ha demostrado que la densidad de capilares también disminuye con la obesidad en múltiples tejidos u órganos de los humanos (Frisbee, 2007). Respecto a la actividad física, se ha estudiado que puede conducir al aumento del número y cierta capacidad para el crecimiento de capilares en el miocardio de animales (Brown y Hudlická, 1999), y humanos: (Leunq y col., 2008). No se encontraron fuentes bibliográficas referidas a la relación del sexo y tamaño corporal con la densidad de capilares en miocardio.

En el estudio de la densidad de adipocitos, se encontró una tendencia a que las franjas etarias de 3 a 8 años y de ≥ 9 años fueran mayores a la franja etaria de 0 a 2 años. Este hallazgo concuerda con lo expresado por Kuk y col. (2009) en estudios en humanos senescentes. Sin embargo, en otro estudio realizado por Luo y col. (2010) no se encontró correlación entre la edad y el grado de infiltración grasa en el miocardio de humanos. No se encontró bibliografía que relacione edad e infiltración grasa del miocardio en perros. Para el hecho de ser una tendencia y no una diferencia, valen los comentarios referentes al número de animales estudiados que ya hemos hecho sobre otras variables.

Otras variables relacionadas con la infiltración grasa del miocardio, como el sexo, tamaño corporal, estado de carnes y régimen de vida, no dejaron de manifiesto relación alguna. En las fuentes consultadas se encontró que la obesidad se relaciona directamente con la infiltración grasa del miocardio en humanos (Mathieu y col., 2008, y Malavazos y col, 2010). No se encontró información que relacione el sexo, tamaño corporal y régimen de vida con la infiltración grasa en miocardio de perros.

Los 8 casos con lesiones tipo III o mayor, presentaron patologías diagnosticadas y graves, pudiendo estar asociadas o no a las lesiones vasculares encontradas.

El caso M13-6A17 en el cual se encontraron las lesiones vasculares más severas (tipo VI), presentaba una infección por *Neospora caninum*. En la bibliografía consultada se reporta un caso en vasos del sistema nervioso central, confirmando que una infección por ese tipo de parásito puede generar acumulaciones perivasculares de linfocitos y células plasmáticas, junto con una activación de astrocitos (por tratarse de SNC) y fibroblastos perivasculares, que resulta en una esclerosis perivascular marcada (Bjerkås y Presthus, 1989). No hemos encontrado informes previos de aterosclerosis por *Neospora* en arterias coronarias, por lo que nuestro hallazgo es el primero indicando coexistencia de infección por *Neospora* y lesiones ateroscleróticas graves en coronarias de perros, en ausencia de los factores predisponentes estudiados en esta tesis.

El caso H15-5C5 presentó una lesión tipo V, teniendo un diagnóstico previo de insuficiencia cardíaca congestiva y un cuadro clínico de uremia. Se ha estudiado en profundidad las consecuencias de la falla cardíaca congestiva sobre la funcionalidad renal así como la falla renal y sus efectos sobre el normal desempeño cardiovascular. Pero en las fuentes consultadas no se ha encontrado relación alguna entre aterosclerosis coronaria y las diferentes

patologías citadas, ya sea de forma conjunta o individual en perros. No se puede dejar de lado la estrecha relación entre las patologías mencionadas y la hipertensión arterial, la cual está demostrado que es un factor predisponente de aterosclerosis en humanos (Hansson y Lundin, 1984, y Harrison, 1993) y que, en nuestro país no se registra rutinariamente en los pacientes veterinarios. Por otra parte, una lesión aterosclerótica grave (tipo V) podría ser la causa de insuficiencia cardíaca congestiva, a punto de partida de arritmias posiblemente provocadas por fallas de irrigación en el sistema de conducción de impulsos en el miocardio.

El caso H30-5C13 presentó una lesión tipo IV; se había diagnosticado un tumor venéreo transmisible. En la búsqueda bibliográfica tampoco se encontraron datos que vinculen esta neoplasia con el desarrollo de lesiones vasculares en perros.

En el caso M5-7B22 se halló una lesión tipo IV, y padecía una neoplasia testicular con metástasis avanzada. No se obtuvo identificación del tipo tumoral, por lo que no se pudo establecer un vínculo con la lesión vascular encontrada.

En el caso M13-9C49 se halló una lesión tipo IV y presentaba un cuadro clínico neoplásico dermatológico previo a la eutanasia. Al no disponer de un diagnóstico histopatológico tumoral, no se pudo comprobar si existía alguna relación de las tumoraciones presentadas con las lesiones vasculares.

El caso M7-9B47 presentó lesiones vasculares tipo III, y existía un diagnóstico de cardiomiopatía dilatada. En las fuentes consultadas se encontró que la disfunción endotelial coronaria existe en la cardiomiopatía dilatada idiopática en humanos (Mathier y col., 1998).

El caso H9-10C53 presentó lesiones vasculares tipo III, con un hallazgo de neoplasia ósea de región coxofemoral. En las fuentes consultadas no se encontraron datos que relacionen las neoplasias de tejidos óseos con el desarrollo de lesiones vasculares en perros.

En el caso H29-11C58 se hallaron lesiones tipo III y existía un diagnóstico presuntivo de osteosarcoma en hueso cigomático diseminado. Como para el caso anterior, no se encontraron fuentes bibliográficas que vinculen esta patología con lesiones vasculares en perros.

En resumen, los casos con lesiones graves o intermedias tenían distintas patologías asociadas, que no han sido previamente vinculadas con aterosclerosis, excepto los casos de neosporosis y cardiomiopatía dilatada.

10. CONCLUSIONES

- Este es el segundo estudio de campo en demostrar lesiones ateroscleróticas coronarias en una población de perros, y el primero en clasificar dichas lesiones, no sólo para nuestro país, sino a nivel mundial.
- Del total de perros muestreados, un 77,5% de individuos presentaba algún grado de lesión vascular.
- Sin embargo, el 55,3% de todos los individuos estudiados (es decir, el 42,8% de los individuos afectados) presentó lesiones vasculares tipo I,

las cuales son de muy pequeño tamaño y no tendrían mayor implicancia clínica.

- Se destaca el hallazgo de lesiones avanzadas (tipo III o mayor) en el 16,3% de los animales estudiados (21,1% de los animales afectados), las cuales pueden tener mayor implicancia clínica.
- Se clasificaron los tipos de lesiones vasculares en perros, utilizando la escala estandarizada de la AHA para humanos, que está ampliamente aceptada internacionalmente.
- El espesor de la capa íntima de las lesiones tipo III o mayor fue mayor que en las lesiones tipo I.
- El espesor de la capa media en las lesiones tipo III o mayor tendió a ser mayor que en las lesiones tipo I.
- El espesor de la capa adventicia en las lesiones tipo III o mayor tendió a ser mayor que en las lesiones tipo I.
- No se encontraron diferencias en las variables edad, sexo, tamaño, estado de carnes, tipo de dieta, régimen de vida, temperamento y convivencia con fumadores, respecto a los tipos de lesiones vasculares.
- No se encontraron diferencias en la densidad de capilares y adipocitos en miocardio, ni en los volúmenes porcentuales de adipocitos asociados a PVN y MB, tejido miocárdico y vasos, con respecto a los tipos de lesiones vasculares.
- No se encontraron diferencias en las variables edad, estado de carnes, sexo, tamaño corporal y régimen de vida, respecto a la densidad de capilares en miocardio.
- La densidad de adipocitos en miocardio tendió a ser mayor en las franjas etarias de 3 a 8 años y de más de 9 años respecto a la franja etaria de 0 a 2 años.
- No se encontraron diferencias en las variables sexo, estado de carnes, tamaño corporal y régimen de vida, respecto a la densidad de adipocitos.
- Los casos que presentaron lesiones vasculares más avanzadas (tipo III o mayor) se asociaron con distintas patologías severas. No se encontró vínculo causal entre estas patologías y las lesiones vasculares.

11. BIBLIOGRAFIA

- 1) **Akishita M, Ouchi Y, Miyoshi H, Kozaki K, Inoue S, Ishikawa M, Eto M, Toba K, Orimo H.** (1997). Estrogen inhibits cuff-induced intimal thickening of rat femoral artery: effects on migration and proliferation of vascular smooth muscle cells. *Atherosclerosis*; 130(1-2):1-10.
- 2) **Alessio HM, Goldfarb A.** (1988). Lipid peroxidation and scavenger enzymes during exercise. Adaptive response to training. *J Appl Physiol*; 64:1333-6.
- 3) **Alexandersen P, Haarbo J, Byrjalsen I, Lawaetz H, Christiansen C.** (1999) Endogenous androgens inhibit male atherosclerosis. A study in castrated, cholesterol-fed rabbits. *Circ Res*; 84 (7):813-819.
- 4) **Allaire E, Clowes AW.** (1997). The intimal hyperplastic response. *Ann Thorac Surg*; 64:38.
- 5) **Amann K, Neimeier KA, Schwarz U, Törnig J, Matthias S, Orth SR, Mall G, Ritz E.** (1997). Rats with moderate renal failure show capillary deficit in heart but not skeletal muscle. *Amer J Kidney Dis*; 30(3), 382-388.
- 6) **Amarenco P, Cohen A, Tzourio C, Bertrand B, Hommel M, Besson G, Chauvel C, Touboul PJ, Bousser MG.** (1994). Atherosclerosis disease of the aortic arch and the risk of ischemic stroke. *N Engl J Med*; 331:1474-1479.
- 7) **Antic V, Dulloo A, Montani JP.** (2003). Multiple mechanisms involved in obesity-induced hypertension Heart. *Lung Circ*; 12(2):84-93.
- 8) **Arquer A, Elosua R, Marrugat J.** (2010). Actividad física y estrés oxidativo. *Ap Med Esport*; 45(165):31-40.
- 9) **Baba E, Arakawa A.** (1984). Myocardial hypoxia in an obese beagle. *Vet Med Sm Anim Clin*; 79:788-91.
- 10) **Bailhache E, Nguyen P, Krempf M, Siliart B, Magot T Ouguerram K.** (2003). Lipoproteins abnormalities in obese insulin-resistant dogs. *Metabolism*; 52:559-564.
- 11) **Ball RY, Stowers EC, Burton JH, Cary NRB, Skepper JN, Mitchinson MJ.** (1995). Evidence that the death of macrophage foam cell contributes to the lipid core of atheroma. *Atherosclerosis*; 114:45-54.
- 12) **Ballester M.** (1996). Antioxidantes, radicales libres y salud. Un enfoque químico-orgánico-físico. *Med Clin (Barc)*; 107:509-15.
- 13) **Balsaver AM, Morales AR, Whitehouse F.** (1967). Fat infiltration of myocardium as a cause of cardiac conduction defect. *Amer J Card*; 19(2):261-265.

- 14) Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D.** (1995). The epidemiology of DHEAS and cardiovascular disease. *Ann N Y Acad Sci*; 774:259-270.
- 15) Barua RS, Ambrose JA, Eales-Reynolds LJ, DeVoe MC, Zervas JG, Saha DC.** (2001). Dysfunctional endothelial nitric oxide biosynthesis in healthy smokers with impaired endothelium-dependent vasodilatation. *Circulation*; 104:1905-1910.
- 16) Bauer JE.** (1992). Diet-induced alterations of lipoprotein metabolism. *J Amer Vet Med Assoc*; 201:1691-1694.
- 17) Belland RJ, Ouellette SP, Gieffers J, Byrne GI.** (2004). *Chlamydia pneumoniae* and Atherosclerosis. *Cell Microb*; 6(2):117-127.
- 18) Bellino FL.** (2000). Modelos animales no primates de la menopausia: informe del taller. *Menopause*; 7:14-24.
- 19) Bennermo M, Held C, Green F, Strandberg LE, Ericsson CG, Hansson L, Watkins H, Hamsten A, Tornvall P.** (2004). Prognostic value of plasma interleukin-6 concentrations and the-174 G > C and-572 G > C promoter polymorphisms of the interleukin-6 gene in patients with acute myocardial infarction treated with thrombolysis. *Atherosclerosis*; 174:157-163.
- 20) Berenson GS, Wattigney WA, Richard MS, Tracy RE, Newman W, Srinivasan SR, Webber LS, Dalferes ER, Strong JP.** (1992). Atherosclerosis of the aorta and coronary arteries and cardiovascular risk factors in persons aged 6 to 30 years and studied at necropsy (The Bogalusa Heart Study). *Am J Cardiol*; 70:851.
- 21) Billon-Galés A, Fontaine C, Filipe C, Douin-Echinard V, Fouque MJ, Flouriot G, Gourdy P, Lenfant F, Laurell H, Krust A, Chambon P, Arnal JF.** (2009). The transactivating function 1 of estrogen receptor alpha is dispensable for the vasculoprotective actions of 17beta-estradiol. *Proc Natl Acad Sci USA*; 106:2053-2058.
- 22) Biondi B, Klein I.** (2004). Hypothyroidism as a Risk Factor for Cardiovascular Disease. *Endocrine*; 24(1):1-13.
- 23) Bjerkås I, Presthus J.** (1989). The neuropathology in toxoplasmosis-like infection caused by a newly recognized cyst-forming sporozoon in dogs. *Acta Pathol Microb Immunol Scand*; 97(5):459-68.
- 24) Bland IM, Guthrie-Jones A, Taylor RD, Hill J.** (2010). Dog obesity: Veterinary practices' and owners' opinions on cause and management. *Prev Vet Med*; 94(3-4):310-315.
- 25) Bodey AR, Mitchell AR.** (1996). Epidemiological study of blood pressure in domestic dogs. *J Small Anim Pract*; 37:116-25.

- 26) Boujon CE, Amberger CN.** (2003). Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC) in a Boxer. *J Vet Card*; 5(1):35-41.
- 27) Brown MD, Hudlická O.** (1999). Exercise, Training, and Coronary Angiogenesis. *Adv Org Biol*; 7:155-196.
- 28) Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J.** (2005). Endothelial function and dysfunction. Part II: association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on endothelins and endothelial factors of the European society of hypertension. *J Hypertens*; 23:233-246
- 29) Büll ML, Martins MRFB.** (2002). Study of the arterial coronary circulation in the dog (*Canis familiaris*). *Rev Chil Anat*; 20(2):117-123.
- 30) Burke AP, Farb A, Tashko G, Virmani R.** (1998). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy and fatty replacement of the right ventricular myocardium: are they different diseases? *Circulation*; 97:1571-1580.
- 31) Calvert CA, Chapman WL, Toal RL.** (1982). Congestive cardiomyopathy in Doberman Pinscher dogs. *J Am Vet Med Assoc*; 181:59-602.
- 32) Chiers K, Vandenberghe V, Ducatelle R.** (2010). Accumulation of Advanced Glycation End Products in Canine Atherosclerosis. *J Comp Pathol* ; 143(1):65-69.
- 33) Chikamune T, Katamoto H, Ohashi F, Shimada Y.** (1995). Serum lipid and lipoprotein concentrations in obese dogs. *J Vet Med Sci*; 57:595-598
- 34) Chou TM, Sudhir K, Hutchison SJ.** (1996). Testosterone induces dilation of canine coronary conductance and resistance arteries in vivo. *Circulation*; 94:2614-2619.
- 35) Christensen GC.** (1962). The blood supply to the interventricular septum of the heart – A comparative study. *Am J Vet Res*; 23:869-874.
- 36) Civeira F, Recalde D, García-Otín A, Cénarro A.** (2008). Genetic Factors of Cardiovascular Diseases. En: Quah S, *International Encyclopedia of Public Health*, Bergen, Norway, Ed. Heggenhougen K, pp.44-55.
- 37) Claridge MW, Bate GR, Hoskins PR, Adam DJ, Bradbury AW, Wilkink AB.** (2009). Measurement of arterial stiffness in subjects with vascular disease: Are vessel wall changes more sensitive than increase in intima–media thickness? *Atherosclerosis*; 205(2):477-480.
- 38) Clark JM, Glavo S.** (1979). Structural integration of the arterial wall. J. Relationships and attachments of medial smooth cells in normally distended and hiperdistended aortas. *Lab. Inves*; 40:587.

- 39) Cohuet G, Struijker-Boudier H.** (2005). Mechanisms of target organ damage caused by hypertension: Therapeutic potential. *Pharm Ther*; 111(1):81-98.
- 40) Constantinides P.** (1966). Plaque fissuring in human coronary thrombosis. *J Atheroscler Res*; 6:1-17.
- 41) Crews JK, Khalil RA.** (1999). Antagonistic effects of 17 beta-estradiol, progesterone, and testosterone on Ca²⁺ entry mechanisms of coronary vasoconstriction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*; 19:1034-1040.
- 42) Criswell D, Powers S, Dodd S, Lawler J, Edwards W, Reushler K.** (1993). High intensity training-induced changes in skeletal muscle antioxidant enzyme activity. *Med Sci Sports Exerc*; 25:1140-53.
- 43) Csányi G, Taylor WR, Pagano PJ.** (2009). NOX and inflammation in the vascular adventitia. *Free Rad Biol Med*; 47(9):1254-1266.
- 44) Davies MG, Hagen PO.** (1994). Pathology of intimal hyperplasia. *Br J Surg*; 81:1254.
- 45) Davies MJ.** (1997). The composition of coronary-artery plaques. *N Engl J Med*; 336:1312.
- 46) Dellmann HD, Venable JH.** (1993). *Histología Veterinaria*. 2a ed. Zaragoza, Acribia, 408p.
- 47) DePalma RG, Koletsky S, Bellon EM et al.** (1977). Failure of regression of atherosclerosis in dogs with moderate cholesterolemia. *Atherosclerosis*; 27(3): 297-310.
- 48) Depboylu B, Doğru-Abbasoğlu S, Aykaç-Toker G, Uysal M.** (2007). Increased susceptibility of serum and apo-B-containing lipoproteins to peroxidation in aged rats. *Clin Exp Med*; 7(4):158-163.
- 49) Duscha BD, Kraus WE, Keteyian SJ, Sullivan MJ, Green HJ, Schachat FH, Phippen AM, Brawner CA, Blanco JM, Anexo BH.** (1999). La densidad capilar del músculo esquelético: un mecanismo que contribuya a la intolerancia al ejercicio en clase II-III de la insuficiencia cardíaca crónica independiente de otras alteraciones periféricas. *J Am Coll Cardiol*; 33:1956-63.
- 50) Dyce K, Sack W, Wensing C.** (1999). *Anatomía Veterinaria*. 2a ed. México DF, McGraw-Hill Interamericana Editores, 952p.
- 51) Dzau VJ, Gibbons GH.** (1991). Endothelium and growth factors in vascular remodeling of hypertension. *Hypertension*; 18:115-121.
- 52) Echeverri D, Delgadillo A, Montes F.** (2007). Efecto morfológico y funcional vascular de los andrógenos endógenos en un modelo experimental en conejos ateroscleróticos. *Rev Col Cardiol*; 14(5): 276-283.

- 53) Egginton S.** (2002). Temperature and angiogenesis: the possible role of mechanical factors in capillary growth. *Comp Biochem Physiol*; 132(4):773-87.
- 54) English KM, Jones RD, Jones TH.** (2002). Testosterone acts as a coronary vasodilator by a calcium antagonistic action. *J Endocrinol Invest*; 25:455-458.
- 55) Erhardt L.** (2009) Cigarette smoking: An undertreated risk factor for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*; 205(1):23-32.
- 56) Everett RM, McGann J, Wimberly HC, Althoff J.** (1999). Dilated cardiomyopathy of Doberman pinschers: retrospective histomorphologic evaluation of heart from 32 cases. *Vet Pathol* 36:221-227.
- 57) Fagerberg B, Bokemark L, Hulthe J.** (2001). The metabolic syndrome, smoking, and antibodies to oxidized LDL in 58-year-old clinically healthy men. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*; 11:227-235.
- 58) Fernández-Britto JE.** (1998). La lesión aterosclerótica: estado del arte a las puertas del siglo XXI. *Rev Cubana Invest Biomed*; 17(2):112-27.
- 59) Fischer VW.** (1979). Myocardial structural response following administration of a fatty diet to rats. *Exp Mol Pathol*; 30(2):215-229.
- 60) Folts JD, Bonebrake FC.** (1982). The effects of cigarette smoke and nicotine on platelet thrombus formation in stenosed dog coronary arteries: inhibition with phentolamine. *Circulation*; 65:465-470.
- 61) Ford RB.** (1995). Canine hyperlipidemia. En: Ettinger SE. *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. 4a ed. Philadelphia, Saunders, pp.1414-1419.
- 62) Frisbee JC.** (2007). Obesity, insulin resistance, and microvessel density. *Microcirculation*; 14:289-298.
- 63) Fuster V, Gotto AM, Libby P, Loscalzo J, McGill HC.** (1996). Pathogenesis of coronary disease: the biologic role of risk factors. *J Am Coll Cardiol*; 27:964-976.
- 64) Fuster V, Ross R, Topol E.** (1997). *Aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria*. 2a ed. Barcelona, Springer-Verlag Ibérica, 1751p.
- 65) Garcia MJ.** (2009). Imágenes en aterosclerosis. Nuevas Alternativas y su aplicación diagnóstica. Simposio pre-19 Congreso Mundial de Cardiología "Nuevos paradigmas en terapéutica cardiovascular". Buenos Aires, Argentina, pp.9-13.
- 66) German AJ.** (2006). The growing problem of obesity in dogs and cats. *J Nutr*; 136 (7 Suppl):1940-1946.

- 67) Gerrity RG.** (1981). The role of the monocyte in atherogenesis. II. Migration of foam cells from atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*; 103:191-200.
- 68) Getty R.** (2005). Anatomía de los animales domésticos de Sisson y Grossman. 5a ed. Filadelfia, Saunders, 2302p.
- 69) Giacconi R, Caruso C, Malavolta M, Lio D, Balistreri CR, Scola L, Candore G, Muti E, Mocchegiani E.** (2008). Pro-inflammatory genetic background and zinc status in old atherosclerotic subjects. *Ag Res Rev*; 7:306-318.
- 70) Gibbons GH, Dzau VJ.** (1994). The emerging concept of vascular remodeling. *N Engl J Med*; 330:1431-1438.
- 71) Grady D, Rubin SM, Petitti DB.** (1992). Hormone therapy to prevent disease and prolong life in postmenopausal women. *Ann Intern Med*; 117:1016-1037.
- 72) Gurfinkel E, Carlos Vigliano C, Meckert PC, Alejandro Bertolotti A, Roberto Favaloro R, Juan Carlos Troncoso JC, Rubén Laguens R.** (2009) Presencia de placas coronarias vulnerables en mujeres de mediana edad que sufrieron muerte cerebral. *Rev Argentina Card*; 77(6): 449-450.
- 73) Haidet GC, Wennberg PW, Finkelstein SM, Morgan DJ.** (1996). Effects of aging per se on arterial stiffness: systemic and regional compliance in beagles. *Am Heart J.*; 132(2 Pt 1):319-27.
- 74) Hamilton RM.** (2009). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy. *Pacing Clin Electrophysiol*; 32(2):44-51.
- 75) Hammerson F, Hammerson E.** (1985). Some estructural funcional aspects of endotelial cell. *Basic Res Cardiol*; 80:491; 49:677-693.
- 76) Hansson L, Lundin S.** (1984). Hypertension and coronary heart disease: Cause and consequence or associated diseases? *Amer J Med*; 76(2):41-44.
- 77) Harpster NK, Kirk RW.** (1983). Harpster NK: Boxer cardiomyopathy. En: Kirk RW. *Current Veterinary Therapy*. 8a ed. Philadelphia, Saunders, pp329-337.
- 78) Harrison DG.** (1993). Physiological aspects of vascular endothelial cell interactions in hypertension and atherosclerosis. *Acta Anaesthesiol Scand Suppl.*; 99:10-5.
- 79) Hehrlein C, Thompson M, Chuang CH, Splinter R, Tuntelder JR, Littmann L, Svenson RH.** (1995). Selective coagulation necrosis of canine adventitia and media induces extracellular matrix accumulation without neointima formation
Atherosclerosis; 113(1):109-115.

- 80) Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger RS.** (1991). Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*; 325:874-877.
- 81) Hess RS, Kass PH, Van Winkle TJ.** (2003). Association between diabetes mellitus, hypothyroidism or hyperadrenocorticism, and atherosclerosis in dogs. *J Vet Intern Med*; 17(4): 489-94.
- 82) Hilfiker-Kleiner D, Limbourg A, Drexler H.** (2005). STAT3-Mediated Activation of Myocardial Capillary Growth. *Trends Card Med*; 15(4):152-157.
- 83) Hirata A, Minamino T, Asanuma H, Fujita M, Wakeno M, Myoishi M, Tsukamoto O, Okada K, Koyama H, Komamura K, Takashima S, Shinozaki Y, Mori H, Shiraga M, Kitakaze M, Hori M.** (2006). Erythropoietin enhances neovascularization of ischemic myocardium and improves left ventricular dysfunction after myocardial infarction in dogs. *J Amer Coll Card*; 48(1):176-184.
- 84) Hodnett BL, Hester RL.** (2007). Regulation of muscle blood flow in obesity. *Microcirculation*; 14:273-288.
- 85) Iacobellis G, Gao YJ, Sharma AM.** (2008). Do cardiac and perivascular adipose tissue play a role in atherosclerosis? *Curr Diab Rep*. 8:20-4.
- 86) Jeusette IC, Lhoest ET, Istasse LP, Diez MO.** (2005). Influence of obesity on plasma lipid and lipoprotein concentrations in dogs. *Amer J Vet Res*; 66:81-86.
- 87) Johansson B, Mörner S, Waldenström A, Stål P.** (2008). Myocardial capillary supply is limited in hypertrophic cardiomyopathy: a morphological analysis. *Inter J Card*; 126(2):252-257.
- 88) Jonasson L, Holm J, Skalli O, Bondjers G, Hansson GK.** (1986). Regional accumulations of T cell, macrophages, and smooth muscle cells in the human atherosclerotic plaque. *Arteriosclerosis*; 6:131-138.
- 89) Kagawa Y, Hirayama K, Uchida E, Izumisawa Y, Yamaguchi M, Kotani T, Niiyama M, Yoshino T, Taniyama H.** (1998). La aterosclerosis sistémica en perros: estudio histopatológico e inmunohistoquímico de las lesiones ateroscleróticas. *J Comp Pathol*; 118:195-206.
- 90) Kamezaki F, Tasaki H, Yamashita K.** (2007). Angiotensin receptor blocker improves coronary flow velocity reserve in hypertensive patients: comparison with calcium channel blocker. *Hyperten Res Clin*; 30:699-706.
- 91) Kannel WB, Wilson PWF.** (1995). An update on coronary risk factors. *Med Clin North Am*; 79:951.

- 92) Kanter MM, Nolte LA, Holloszy JO.** (1993). Effects of an antioxidant vitamin mixture on lipid peroxidation at rest and post-exercise. *J Appl Physiol*; 74:965-9.
- 93) Karch R, Neumann F, Ullrich R, Neumüller J, Podesser BK, Neumann M, Schreiner W.** (2005). The spatial pattern of coronary capillaries in patients with dilated, ischemic, or inflammatory cardiomyopathy. *Card Pathol*; 14(3):135-144.
- 94) Kass DA.** (2002). Age-related changes in ventricular–arterial coupling: pathophysiologic. *Heart Fail Rev*; 7(1):51-62.
- 95) Katsuda S, Boyd HC, Fligner C, Ross R, Gown AM.** (1992). Human atherosclerosis. III. Immunocytochemical analysis of the cell composition of lesions of young adults. *Am J Pathol*; 140:907-914.
- 96) Katz SS, Shipley GG, Small DM.** (1976). Physical chemistry of the lipids of human atherosclerotic lesions. Demonstration of a lesion intermediate between fatty streaks and advanced plaques. *J Clin Invest*; 58:200-211.
- 97) Kaul S, Jayaweera AR.** (2008). Myocardial Capillaries and Coronary Flow Reserve. *J Amer Coll Card*; 52(17):1399-1401.
- 98) Kellman P, Hernando D, Arai AE.** (2010). Myocardial Fat Imaging. *Curr Cardiovasc Imag Rep*; 3(2):83-91.
- 99) Konopiński M, Zimnoch L.** (1976). Pathomorphology of lungs and heart in experimental prolonged hypoxia. *Anaesth Resusc Intensive Ther.*; 4(2):95-103.
- 100) Kramer MF, Kinscherf R, Aidonidis I, Metz J.** (1998). Occurrence of a terminal vascularisation after experimental myocardial infarction. *Cell Tissue Res*; 291:97-105.
- 101) Kuk JL, Saunders TJ, Davidson LE, Ross R.** (2009). Age-related changes in total and regional fat distribution. *Ag Res Rev*; 8(4):339-348.
- 102) Lang U, Scott Baker R, Clark KE.** (1997). Estrogen-induced increases in coronary blood flow are antagonized by inhibitors of nitric oxide synthesis. *European J Obst Gyn Reprod Biol*; 74(2):229-235
- 103) Leunq FP, Yung LM, Laher I, Yao X, Chen ZY, Huang Y.** (2008). Exercise, vascular wall and cardiovascular diseases: an update (Part 1). *Sports Med*; 38(12):1009-1024.
- 104) Levy BI, Duriez M, Samuel JL.** (2001). Coronary microvasculature alteration in hypertensive rats. Effect of treatment with a diuretic and an ACE inhibitor. *Amer J Hypert*; 14(1):7-13.

- 105) Lewis JC, Taylor RG, Jerome WG.** (1985). Foam cells characteristics in coronary arteries and aortas of white Carneau pigeons with moderate hypercholesterolemia. *Ann NY Acad Sci*; 454:91-100.
- 106) Libby P, Egan D, Skarlatos S.** (1997). Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis: an assessment of the evidence and need for future research. *Circulation*; 96:4095-4103.
- 107) Libby P.** (2002a). Patogenia de la aterosclerosis. En: Harrison, Principios de Medicina Interna. Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. 15a ed, Mexico DF, McGraw-Hill Interamericana, 1642p.
- 108) Libby P.** (2002b). Prevención y Tratamiento de la Aterosclerosis. En: Harrison, Principios de Medicina Interna. Braunwald, Fauci, Kasper, Hauser, Longo, Jameson. 15a ed, Mexico DF, McGraw-Hill Interamericana, 1642p.
- 109) Likhoded VG, Martynova VR.** (2000). Role of Chlamydia pneumoniae in the etiology of atherosclerosis. *Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol*; (4 Suppl):117-121.
- 110) Linna MS, Ahotupa M, Irjala K.** (2008). Smoking and low serum testosterone associates with high concentration of oxidized LDL. *Ann Med*; 40(8):634-640.
- 111) Liu SK, Tilley LP, Tappe JP, Fox PR.** (1986). Clinical and pathologic findings in dogs with atherosclerosis: 21 cases (1970-1983). *J Am Vet Med Assoc*; 189(2): 227-232.
- 112) Lobo L, Carnevalheira J, Canada N, Bussadori C, Gomes JL, Faustino AM.** (2010). Histologic characterization of dilated cardiomyopathy in estrela mountain dogs. *Vet Pathol*; 47(4):637-642.
- 113) Luo BT, Jiang HG, Zhao YH, Chen XY.** (2010). Pathology of myocardial fatty infiltration: an autopsy report from 117 cases. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*; 38(4):350-353.
- 114) Mahley RW, Weisgraber KH.** (1974). Canine lipoproteins and atherosclerosis. I. Isolation and characterization of plasma lipoproteins from control dogs. *Circ Res*; 35:713-721.
- 115) Mahmud A, Feely J.** (2003). Effect of smoking on arterial stiffness and pulse pressure amplification. *Hypertension*; 41:183-187.
- 116) Malavazos AE, Di Leo G, Secchi F, Lupo EN, Dogliotti G, Coman C, Morricone L, Corsi M, Sardanelli F, Iacobellis G.** (2010). Relation of Echocardiographic Epicardial Fat Thickness and Myocardial Fat. *Amer J Card*; 105(12):1831-1835.

- 117) Manning PJ.** (1979). Thyroid gland and arterial lesions of Beagles with familial hypothyroidism and hyperlipoproteinemia. *Am J Vet Res*; 40(6): 820-828.
- 118) Marrugat J, Elosua R, Covas MI, Molina L, Rubies-Prat J, and the MARATHOM investigators.** (1996). Amount and intensity of physical activity, physical fitness and serum lípido in men. *Am J Epidemiol*; 143:562-569.
- 119) Maseri A.** (1997). Inflammation, atherosclerosis, and ischemic events; exploring the hidden side of the moon. *N Engl J Med*; 336(14):1014-1016.
- 120) Mathier MA, Rose GA, Fifer MA, Miyamoto MI, Dinsmore RE, Castaño HH, Dec GW, Palacios IF, Semigran MJ.** (1998). Coronary endothelial dysfunction in patients with acute-onset idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Amer Coll Card*: 32(1):216-224.
- 121) Mathieu P, Pibarot P, Larose E, Poirier P, Marette A, Després JP.** (2008). Visceral obesity and the heart. *Internat J Biochem Cell Biol*; 40(5):821-836.
- 122) McGavock JM, Victor RG, Unger RH, Szczepaniak LS.** (2006). Adiposity of the heart, revisited. *Ann Intern Med*; 144:517-524.
- 123) McGavock JM, Lingvay I, Zib I.** (2007). Cardiac steatosis in diabetes mellitus: a 1H-magnetic resonance spectroscopy study. *Circulation*; 116:1110-1112.
- 124) McGill Jr HC.** (1988). The cardiovascular pathology of smoking. *Am Heart J*; 115:250-257.
- 125) McGrath JC, Deighan C, Briones AM,** (2005). New aspects of vascular remodelling: the involvement of all vascular cell types. *Exp Physiol*; 90:469-475.
- 126) McQueen AP, Zhang D, Hu P, Swenson L, Yang Y, Zaha VG, Hoffman JL, Yun U, Chakrabarti G, Wang Z, Albertine KH, Abel ED, Litwin SE.** (2005). Contractile dysfunction in hypertrophied hearts with deficient insulin receptor signaling: possible role of reduced capillary density. *J Mol Cell Card*; 39(6):882-892.
- 127) Mete A, McDonough SP.** (2010). Epicardial Coronary Artery Fibromuscular Dysplasia, Myocardial Infarction and Sudden Death in a Dog. *J Comp Pathol*; 2010 Jun 8.
- 128) Mintz GS, Pichard AD, Popma JJ, Kent KM, Satler LF, Bucher TA, Leon MB.** (1997). Determinants and correlates of target lesion calcium in coronary artery disease: a clinical, angiographic and intravascular ultrasound study. *J Am Coll*; 29:268-274.

- 129) Mitchell LE, Sprecher DL, Borecki IB, Rice T, Laskarzewski PM.** (1994). Evidence for an association between dehydroepiandrosterone sulfate and non-fatal, premature myocardial infarction in males. *Circulation*; 89:89-93.
- 130) Moghadasian MH.** (2002). Atherosclerosis experimental: una visión histórica. *Life Sci*; 11; 70:855-65.
- 131) Mueller TM, Tomanek RJ, Kerber RE, Marcus ML.** (1980). Myocardial infarction in dogs with chronic hypertension and left ventricular hypertrophy. *Am J Physiol.*; 239(6):731-735.
- 132) Munro JM, Van der Walt JD, Munro CS, Chalmers JA, Cox EL.** (1987). An immunohistochemical analysis of human aortic fatty streaks. *Hum Pathol*; 18:375-380.
- 133) Murfee WL, Schmid-Schönbein GW.** (2008). Chapter 12 Structure of Microvascular Networks in Genetic Hypertension. *Meth Enz*; 444:271-284.
- 134) Murphy JG, Khalil RA.** (1999). Decreased $[Ca^{2+}]_i$ during inhibition of coronary smooth muscle contraction by 17 β -estradiol, progesterone, and testosterone. *J Pharmacol Exp Ther*; 291:44-52.
- 135) Mussa FF, Chai H, Wang X, Yao Q, Lumsden AB, Chen C.** (2006). Chlamydia pneumoniae and vascular disease: an update. *J Vasc Surg*; 43(6):1301-1307.
- 136) Nandan R, Fisher JD, Towery EP, Brown DR, Ganote E, Jennings RB.** (1975). Effects of dextrothyroxine on hyperlipidemia and experimental atherosclerosis in beagle dogs. *Atherosclerosis*; 22(2):299-311.
- 137) Neaton JD, Wentworth D.** (1992) Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease: overall findings and differences by age for 316099 white men. *Arch Intern Med*; 152:56.
- 138) Okamoto E, Suzuki T, Aikawa M.** (1996). Diversity of the synthetic-state smooth-muscle cells proliferating in mechanically and hemodynamically injured rabbit arteries. *Lab Invest*; 74:120.
- 139) Oyama MA, Reiken S, Lehnart SE, Chittur SV, Meurs KM, Stern J, Marks AR.** (2008). Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy in Boxer dogs is associated with calstabin2 deficiency. *J Vet Card*; 10(1):1-10.
- 140) Patterson JS, Rusley MS, Zachary JF.** (1985). Neurologic manifestations of cerebrovascular atherosclerosis associated with primary hypothyroidism in a dog. *J Am Vet Med Assoc*; 186(5): 499-503.
- 141) Pearlman ES, Weber KT, Janicki JS.** (1981). Quantitative histology of the hypertrophied human heart. *Fed Proc*; 40:2042-2047.

- 142) Pittilo M.** (2000). Cigarette smoking, endothelial injury and cardiovascular disease. *Int J Exp Pathol*; 81:219-230.
- 143) Pober J, Cotran RS.** (1990). Cytokines and endothelial cell biology. *Physiol Rev*; 70:427.
- 144) Powers SK, Criswell D, Lawler J, Martin D, Lien FK, Ji LL.** (1993). Rigorous exercise training increases superoxide dismutase activity in ventricular myocardium. *Am J Physiol*; 265:2094-2098.
- 145) Quyyumi AA.** (1998). Endothelial function in health and disease: new insights into the genesis of cardiovascular disease. *Am J Med*; 105(1A):32-39.
- 146) Raines EW, Koyama H, Carragher NO.** (2009). The extracellular matrix dynamically regulates smooth muscle cell responsiveness to PDGF. *Ann N York Acad Sci*; 902:39-45.
- 147) Rakusan K.** (1999). Vascularization of the Heart During Normal and Pathological Growth. *Adv Org Biol*; 7:129-153.
- 148) Rando K, Dorf N.** (2002). Fisiopatología de la insuficiencia coronaria. En: *Temas de fisiopatología. Facultad de Medicina. Montevideo, Uruguay*, pp13-23.
- 149) Ross R.** (1993). The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature*; 362:801-809.
- 150) Rubany GM.** (1933). The role endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol*; (supl 4):1-14.
- 151) Rumberger JA, Sheedy PF, Breen JF, Fitzpatrick LA, Schwartz RS.** (1996). Electron beam computed tomography and coronary artery disease: scanning for coronary artery calcification. *M Clin Proc*; 71:369-377.
- 152) Sabbah HN, Sharov VG, Cook JM, Shimoyama H, Lesch M, Goldstein S.** (1996). Enalapril but not metoprolol improves capillary density and oxygen diffusion distance in left ventricular myocardium of dogs with moderate heart failure. *J Amer Coll Card*; 27(2):1:56.
- 153) Sako T, Takahashi T, Takehana K, Uchida E, Nakade T, Umemura T, Taniyama H.** (2002). Chlamydial infection in canine atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis*; 162(2):253-259.
- 154) Sako T, Uchida E, Kagawa Y, Hirayama K, Nakade T, Taniyama H.** (2003). Immunohistochemical Detection of Apolipoprotein A-I and B-100 in Canine Atherosclerotic Lesions. *Vet Pathol*; 40:328-331.
- 155) Sánchez-Rubio J, Carreras F, Pujadas S, Leta R, Guillaumet E, Grande C, Viñolas X, Pons-Lladó G.** 2005. Utilidad clínica de la cardiorresonancia magnética para el diagnóstico de pacientes con sospecha de displasia arritmogénica ventricular derecha. *Rev Esp Cardiol* 58:1022-1028.

- 156) Schieffer B, Wollert KC, Berchtold M, Saal K, Schieffer E, Hornig B, Drexler H.** (1995). Development and prevention of skeletal muscle structural alterations after experimental myocardial infarction. *Am J Physiol*; 269:1507-1513.
- 157) Schmitz G, Muller G.** (1991). Structure and function of lamellar bodies, lipid-protein complexes involved in storage and secretion of cellular lipids. *J Lipid Res*; 32:1539-1570.
- 158) Schoen F.** (1989). *Interventional and surgical cardiovascular pathology: clinical correlations and basic principles.* Philadelphia, WB Saunders, 33p.
- 159) Schoen F, Cotran R.** (2000). Vasos sanguíneos, En: Robbins. Patología estructural y funcional. Cotran, Kumar, Collins. 6a ed, Mexico DF, McGraw-Hill Interamericana, p519-569.
- 160) Schwenke DC, Carew TE.** (1989). Initiation of atherosclerotic lesions in cholesterol-fed rabbits I. Focal increases in arterial LDL concentration precede development of fatty streak lesions. *Arteriosclerosis*; 9:895-907.
- 161) Shafi NA, Anglade MW.** (2009). Arrhythmogenic right ventricular dysplasia: a case report and review of the literature. *Conn Med*; 73(1):5-9.
- 162) Small DM.** (1988). Progression and regression of atherosclerotic lesions. Insights from lipid physical biochemistry. *Arteriosclerosis*; 8:103-129.
- 163) Smets P, Meyer E, Maddens B, Daminet S.** (2010). Cushing's syndrome, glucocorticoids and the kidney. *Gen Comp Endoc*; 169(1):1-10.
- 164) Smith EB, Smith RH.** (1976). Early changes in aortic intima. *Atherosclerotic Rev*; 1:119-236.
- 165) Sokolov EI, Simonenko VB, Zykova AA, Sredniqkov AV.** (2009). Pathogenesis of myocardial hypoxia in patients with metabolic syndrome. *Kardiologia*; 49(10):35-40.
- 166) Sottiaux J.** (1999). Atherosclerosis in a dog with diabetes mellitus. *J Small Anim Pract*; 40(12):581-584.
- 167) Stapleton PA, James ME, Goodwill AG, Frisbee JC.** (2008). Obesity and vascular dysfunction. *Pathophysiology*; 15(2):78-89.
- 168) Stary H.** (1989). Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. *Atherosclerosis*; 9 (suppl 1):19-32.
- 169) Stary H.** (1990). The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life. *Eur Heart J*; 11:3-19.

- 170) Stary H, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Rosenfeld M, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW.** (1995). A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerotic. *Circulation*; 92:1355.
- 171) Stefanadis C, Tsiamis E, Vlachopoulos C.** (1997). Unfavorable effect of smoking on the elastic properties of the human aorta. *Circulation*; 95:31-38.
- 172) Steinberg D, Witztum JL.** (1990). Lipoproteins and atherogenesis. *Current concepts. JAMA*; 264:3047-3052.
- 173) Suarez Loaiza J.** (2001). Fisiopatología de la aterosclerosis, primera parte. *Rev costarric cardiol*; 3(2):54-63.
- 174) Sudhir K, Chou TM, Mullen WL, Hausmann D, Collins P, Yock P, Chatterjee K.** (1995). Mechanisms of estrogen-induced vasodilation: In vivo studies in canine coronary conductance and resistance arteries. *Journal of the Amer Coll Card*; 26(3):807-814.
- 175) Taguchi R, Takasu J, Itani Y.** (2001). Pericardial fat accumulation in men as a risk factor for coronary artery disease. *Atherosclerosis*; 157:203-209.
- 176) Tidholm A, Jönsson L.** (2005). Histologic characterization of canine dilated cardiomyopathy. *Vet Pathol.*; 42(1):1-8.
- 178) Toda N, Imamura T, Okamura T.** (2010). Alteration of nitric oxide-mediated blood flow regulation in diabetes mellitus. *Pharm Therap*; 127(3):189-209.
- 179) Tomanek RJ, Palmer PJ, Peiffer GL, Schreiber KL, Eastham CL, Marcus ML.** (1986). Morphometry of canine coronary arteries, arterioles, and capillaries during hypertension and left ventricular hypertrophy. *Circ Res*; 58:38-46.
- 180) Tomanek RJ, Aydelotte MR, Torry RJ.** (1991). Remodeling of coronary vessels during aging in purebred Beagles. *Circ Res*; 69:1068-1074.
- 181) Torres M, Carrizales M, Sutil R, Márquez M, Muñoz M, Reigosa A, Barrios V.** (2007). Efecto del diltiazem sobre los lípidos séricos y lesiones ateroscleróticas en conejos hipercolesterolémicos. *Arch Venezolanas Farm Ter*; 26(2):120-126.
- 182) Tsagalou EP, Anastasiou Nana-M, Agapitos E, Gika A, Drakos SG, Terrovitis JV, A Ntalianis, Nanas JN.** (2008). Depressed coronary flow reserve is associated with decreased myocardial capillary density in patients with heart failure due to idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*; 52:1399-1401.

- 183) Van Winkle TJ, Bruce E.** (1993). Thrombosis of the portal vein in eleven dogs. *Vet Pathol*; 30:28-35.
- 184) Viinikka L, Vaoni J, Ylikokala O.** (1984). Lipid peroxides prostacyclin, and thromboxane A2 in runners during acute exercise. *Med Sci Sports Exerc*; 16:275-277.
- 185) Walker BR.** (2007). Glucocorticoids and cardiovascular disease. *Eur J Endocrinol*; 157:545-559.
- 186) Wilcox JN, Scott NA.** (1996). Potential role of the adventitia in arteritis and atherosclerosis. *Internat J Card*; 54(2):21-35.
- 187) Whitney MS.** (1992). Evaluation of hyperlipidemias in dogs and cats. *Sem Vet Med Surg (Small Anim Pract)*; 7:292-300.
- 188) Yanbaeva DG, Dentener MA, Creutzberg EC, Wesseling G, Wouters EF.** (2007). Systemic effects of smoking. *Chest*; 131:1557-1566.
- 189) Yarnell JWG, Beswick AD, Sweetnam PM, Riad-Fahmy D.** (1993). Endogenous sex hormones and ischemic heart disease in men. The Caerphilly Prospective Study. *Arterioscler Thromb*; 13:517-520.
- 190) Xu F, Ji J, Li L, Chen R, Hu W.** (2007). Adventitial fibroblasts are activated in the early stages of atherosclerosis in the apolipoprotein E knockout mouse. *Bioch Biophys Res Comm*; 352(3):681-688.
- 191) Zechmeister A.** (1971). The influence of myocardial bridges on the wall of the coronary arteries during cholesterol-induced atherosclerosis in dogs. *Atherosclerosis*; 13(3):305-317.
- 192) Zoran DL.** (2010). Obesity in Dogs and Cats: A Metabolic and Endocrine Disorder. *Vet Clin North America: Small Anim Pract*; 40(2):221-239.

12. ANEXOS

12.1 Anexo I

PROTOCOLO DE TOMA DE MUESTRAS PARA ESTUDIO DE LA IRRIGACIÓN CARDÍACA CANINA.

MUESTRA PARA ESTUDIOS HISTOLÓGICOS

1. Criterios generales para la buena toma de muestras histológicas:

La muestra debe ser fijada lo más rápidamente posible desde el momento en que se interrumpe la circulación sanguínea en la zona.

La muestra no debe sufrir daños mecánicos, químicos o de temperatura (calentamiento o congelación).

Los procesos de alteración celular post mortem se enlentecen si se mantiene la muestra fría.

La congelación altera mucho la histología de la muestra, por formación de cristales de hielo en los tejidos.

La muestra debe tener no más de 5 mm de profundidad desde su superficie hasta el punto más alejado de ella.

La relación entre volumen de la solución fijadora y volumen de la muestra debe ser de al menos 20 a 1. De lo contrario, no habrá suficiente formol para fijar adecuadamente los tejidos.

La muestra deberá de estar totalmente sumergida y en lo posible sin apoyarse sobre el fondo del recipiente directamente. Puede ayudarse con un trozo de algodón por encima de la muestra en caso que la misma flote, o por debajo de la muestra en caso que no flote.

2. Procedimiento para la toma de muestras de tejido cardíaco:

2.1. Abrir la parrilla costal cuidando de no lesionar el corazón. Se pueden cortar las falsas costillas a ambos lados del esternón y levantar el mismo hacia la cabeza. Asimismo, puede cortar las axilas para mayor comodidad.

2.2. Separar el corazón a nivel de los grandes vasos, cuidando de no apretarlo.

2.3. Separar el tronco coronario (raíz) de ramas coronarias derecha e izquierda con aproximadamente 5 mm de tejido circundante a cada lado. Debe guiarse por las arterias coronarias derecha e izquierda y seguirlas, en forma retrógrada, hasta que se encuentre el origen en común de ambas. Esta es la zona a muestrear (ver esquema). Es deseable que la muestra sea tomada con hoja de

bisturí u hoja de afeitar afilada, y sin apretar ni con pinzas ni con los dedos los tejidos a muestrear

2.4. Sumergir la muestra inmediatamente en la solución fijadora de formol (provista previamente).

2.6. Es conveniente que la muestra quede rodeada por formol por todas sus caras, por lo que se debe de poner en el fondo del recipiente una capa de algodón.

2.7. Es esencial identificar la muestra, asignándole un número en la etiqueta del recipiente. Es más prudente escribir con lápiz que con tinta, la cual puede llegar a borrarse si queda en contacto con líquidos.

2.8. Si es posible, mantener el recipiente con la muestra en la puerta de la heladera. Asegurarse que no haya congelación.

2.9. Llenar la ficha adjunta con los datos del animal muestreado. Esto es esencial para que la muestra sea útil.

Agradecidos desde ya

Dr. Alejandro Bielli

Dra. Alicia Baldovino

Dra. Andrea Rotunno

Br. Oscar A. Pereira

Br. José Pintos

Br. Pablo Grimón

Montevideo, 12 de junio de 2005.

Estimado colega:

Por la presente le estamos solicitando colaboración para un proyecto conjunto entre el Hospital de la Facultad de Veterinaria y el Área de Histología y Embriología de la misma. Este proyecto tiene como objetivo el estudiar las eventuales correlaciones entre la edad, el estilo de vida del canino y la morfología arterial a nivel cardíaco. Actualmente se ha encontrado que los perros pueden sufrir de aterosclerosis, que al igual que en seres humanos se depositan apolipoproteínas en placas de ateroma que pueden mineralizarse, y llegar a obstruir las luces arteriales. Este proceso se ha encontrado en perros de más de 10 años de edad y no en perros de menos de 3 años (Sako y col., 2003*) Creemos que el estudio que nos proponemos realizar puede ser de interés para el colega clínico en ejercicio liberal, y por eso nos atrevemos a pedirle ayuda: si está Ud. dispuesto, le adjuntaremos una ficha y recipientes etiquetados 1) con formol y 2) un tubo seco para sangre, para recibir las muestras. La población a muestrear debería ser heterogénea, contemplando animales con estilo de vida "sano" (ejercicio, vida al aire libre, comida baja en grasas) y con estilo de vida "sedentario" (sedentario, obeso, convive con fumadores, comida de alto contenido graso, etc.). Por cualquier duda o consulta, lo atenderemos con gusto en

Agradecidos desde ya

Dr. Alejandro Bielli

Dra. Alicia Baldovino

Dra. Andrea Rotunno

(*) T. Sako, E. Uchida, Y. Kagawa, K. Hirayama, T. Nakade and H. Taniyama
Immunohistochemical Detection of Apolipoprotein A-I and B-100 in Canine
Atherosclerotic Lesions. Vet Pathol 40:328-331 (2003).

12.2 Anexo II

Montevideo, 2 de mayo de 2006.

Estimado colega:

Los Departamentos de Pequeños Animales (Cardiología), de Morfología y Desarrollo (Áreas de Histología y Embriología y de Anatomía Normal) y el Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Veterinaria estamos desarrollando un proyecto en común para el cual su colaboración sería muy valiosa.

El proyecto tiene como objetivo **estudiar las eventuales correlaciones entre la edad, el estilo de vida del canino, la morfología y patología arteriales (placas de ateroma) en la circulación cardíaca.**

Actualmente se sabe que los perros pueden sufrir de aterosclerosis, y que al igual que en seres humanos se depositan apolipoproteínas en placas de ateroma que pueden mineralizarse y llegar a obstruir las luces arteriales. Este proceso se ha encontrado en perros de más de 10 años de edad y no en perros de menos de 3 años (Sako y col., 2003*).

Creemos que la investigación que nos proponemos realizar puede ser de interés para la profesión y por eso nos atrevemos a solicitarle colaboración: si está Ud. dispuesto a colaborar con nosotros, le solicitamos nos avise urgentemente cuando haya fallecido un paciente canino ya sea por muerte espontánea o por eutanasia, no importando la etiología. Le adjuntaremos una ficha con datos sobre el paciente fallecido que son de importancia para la interpretación de los eventuales hallazgos.

El colega puede contactarnos EN CUANTO OCURRA LA MUERTE DE UN PACIENTE Y PASAREMOS A RETIRAR EL CADÁVER LO ANTES POSIBLE. Por cualquier duda o consulta, lo atenderemos con gusto en los departamentos antedichos de nuestra Facultad o en los teléfonos 099 69 41 17, 099 26 38 39 o en el 622 29 33.

Agradecidos desde ya

Dra. Alicia Baldovino

Dr. Alejandro Bielli

Dra. Helena Katz

Dr. Pedro Martino

Bach. William Pérez

Dra. Andrea Rotunno

(*) T. Sako, E. Uchida, Y. Kagawa, K. Hirayama, T. Nakade and H. Taniyama
Immunohistochemical Detection of Apolipoprotein A-I and B-100 in Canine
Atherosclerotic Lesions. Vet Pathol 40:328-331 (2003).

12.3 Anexo III

FICHA DE REMISIÓN DE MATERIAL.

FECHA Y HORA DE FALLECIMIENTO:
FECHA Y HORA DE OBTENCIÓN DEL MATERIAL:

DATOS DEL PROPIETARIO (OPCIONAL):

NOMBRE:
DIRECCIÓN:
EMAIL: TEL/CEL:

DATOS DEL COLEGA REMITENTE (OPCIONAL):

NOMBRE:
DIRECCIÓN:
EMAIL: TEL/CEL:

SOSPECHA DE MOTIVO DE FALLECIMIENTO (SI ES QUE EXISTE):

DATOS DEL DONANTE:

RAZA: EDAD: SEXO:
PESO APROXIMADO: Kg.
TAMAÑO: P M G
ESTADO DE CARNES: obeso normal delgado caquético

ANAMNESIS AMBIENTAL_(marcar el ítem correspondiente)

ALIMENTACIÓN.

I - Alimento casero y colaciones si las recibe (especificar)

II - Ración (especificar marca, aclarando el tipo: light, senior, junior, etc.):

III - Mixta

RÉGIMEN DE VIDA.

I-Ejercicio reglamentado II- Libre III- Sedentario

TEMPERAMENTO

Estresado Hiperquinético Tranquilo

EN CASO QUE EL ANIMAL CONVIVIERA CON FUMADORES, especificar si el animal vivía adentro, al aire libre ó ambos.

ANAMNESIS PATOLÓGICA (marcar el ítem correspondiente).

De especial interés antecedentes de:

- a. patologías cardiovasculares
- b. diabetes
- c. obesidad
- d. fumador pasivo
- e. hipotiroidismo

Se realizó en algún momento estudios de perfil lipídico sérico o sanguíneo? Si se dispone de valores, adjuntarlos.

OTROS DATOS QUE CONSIDERE DE INTERÉS MENCIONAR:

(medicación recibida en el último mes de vida, etc.)

AGRADECEMOS DESDE YA SU APORTE.

**EL CONTAR CON LA MAYOR INFORMACIÓN POSIBLE Y PRECISA
SOBRE EL DONANTE ES DE FUNDAMENTAL IMPORTANCIA.**