

REPORTE DE CASO

Efecto antiproliferativo renal del enalaprilato

Renal antiproliferative effect of enalapril

Cacace C¹, Delvalle E¹, García J¹, Meza A¹, Lezcano H², Acosta C³, Barreto S³, Malvetti V³, Santa Cruz F³

¹ Médicos Internos. ² Cátedra de Histología. ³ Cátedra de Fisiopatología.
Facultad de Ciencias Médicas, Universidad Nacional de Asunción.

RESUMEN

Introducción: El enalapril es conocido por su efecto antiproliferativo, al inhibir la Enzima de Conversión de la Angiotensina I (IECA). Revierte efectos renales de la angiotensina II entre ellos la hiperfiltración glomerular pudiendo prevenir la esclerosis. **Objetivo:** Analizar efecto antiproliferativo del enalaprilato en modelo renal de esclerosis en ratas wistar. **Material y Métodos:** 20 ratas wistar fueron divididas en 4 grupos de 5. Grupo 1: tratado con enalaprilato luego de nefrectomía. Grupo 2: enalaprilato previo a la nefrectomía. Grupo 3: nefrectomía sin tratamiento. Grupo 4: enalaprilato sin nefrectomía. Dosis fue de 60 mg/Kg/día por cánula orogástrica por 1 mes. Ratas fueron sacrificadas tomándose muestras histológicas de los riñones. Fueron evaluados tamaño y peso del riñón y estadificación por grado de la lesión glomerular. Los datos se muestran en promedio y DE, y por frecuencia y porcentaje. **Resultados:** 87% de las ratas sobrevivieron a la nefrectomía. El promedio general del tamaño renal fue de 20x10 mm y el peso renal del G1: 1,6 ±0,1g; G2: 1,7±0,5g; G3:2,0±0,2g y G4:1,7±0,1g. El grado máximo de glomeruloesclerosis fue grado 1 (expansión mensajial/ engrosamiento de la membrana basal y/o irregularidades de las luces de los capilares); el G1 presentó 50% de afectación, G2 presentó 25 %, G3 mostró 60% y G4 sin afectación glomerular. **Conclusión:** El enalaprilato previene el grado de glomeruloesclerosis en el grupo G2 demostrando que administrado antes de la nefrectomía la evolución de la esclerosis disminuye en relación al G1 y G3. Con esto podemos probar el efecto antiproliferativo del IECA.

Palabras clave: Hiperfiltración renal, glomeruloesclerosis, IECA, enalapril, monorrenos.

Autor correspondiente: Dr Francisco Santa-Cruz, Cátedra de Fisiopatología, Facultad de Ciencias Médicas, UNA. Casilla Correo 1172. Asunción, Paraguay. Correo electrónico: fsantas@gmail.com

Fecha de recepción el 28 de octubre del 2014; aceptado el 30 de diciembre del 2015

ABSTRACT

Introduction: Enalapril is known for its antiproliferative effect by inhibiting Angiotensin Converting Enzyme (ACEi). Reverses renal effects of angiotensin II including glomerular hyperfiltration can prevent sclerosis. **Objective:** To analyze antiproliferative effect of enalaprilat in renal sclerosis model in unilateral nephrectomized wistar rats. **Material. Methods:** 20 Wistar rats were divided into 4 groups of 5. Group 1: treatment with enalaprilat after nephrectomy. Group 2: enalaprilat prior to nephrectomy. Group 3: nephrectomy without treatment. Group 4: enalaprilat without nephrectomy. Dose was 60 mg / kg / per day by orogastric cannula for 1 month. Rats were sacrificed and kidney tissue samples were taken. Were evaluated size and kidney weight and glomerular injury staging by frequency and percentage. **Results:** 87 % of the rats survived nephrectomy. The renal size average was 20x10 mm and kidney weight of G1: $1.6 \pm 0.1g$; G2: $1.7 \pm 0.5g$; G3: $2.0 \pm 0.2 g$ and G4 $1.7 \pm 0.1 g$. The maximum degree of glomerulosclerosis was grade 1 (mesangial expansion / thickening of the basement membrane and / or irregularities lights capillaries); G1 showed 50 % involvement, 25 % presented G2, G3 and G4 showed 60 % without glomerular involvement. **Conclusion:** enalaprilat prevents glomerulosclerosis in G2 demonstrating administered before nephrectomy sclerosis developments decreases relative to the G1 and G3 and this can prove antiproliferative effect of ACE inhibitors.

Key Words: Hyperfiltration, renal glomerulosclerosis , ACE inhibitors, enalapril.

INTRODUCCION

Los mecanismos de producción de la glomeruloesclerosis están relacionados con patologías como por ejemplo la hipertensión arterial, diabetes y la reducción del número de nefronas 1. Entre los mecanismo de la esclerosis renal se encuentra el efecto proliferativo de la Angiotensina II, el cual es bastante conocido y se realiza a través de su receptor AT1 (1).

Estudios experimentales en ratas y ratones han demostrado que la inhibición de una enzima conocida como ECA2, presente en el riñón, que convierte la Angiotensina I en Angiotensina 1-9 y a la Angiotensina II en Angiotensina en Angiotensina 1-7, inicia el proceso proliferativo del riñón evidenciado por el desarrollo del mesangio glomerular con aumento del depósito de colágeno tipo I/III y de la proteína de la matriz extracelular fibronectina (2).

Por otro lado, los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina I (IECA) revierten los efectos renales mediados por la Angiotensina II y potencian los de las cininas, que provocan una vasorrelajación de la arteriola eferente disminuyendo de la presión intraglomerular. Al aumentar el flujo plasmático renal, el filtrado glomerular no se modifica o disminuye ligeramente. Está demostrado que disminuyen la proteinuria y enlentecen la progresión hacia la insuficiencia renal (3,4).

Hace 15 años, Barry Brenner propuso la hipótesis en la que sostenía que el déficit en el número de nefronas, al cual llamó "subdotación de nefronas", estaba relacionada con la Hipertensión Arterial (HTA), sobre todo en aquellos nacidos con bajo peso, es decir con menos de 2.500 g, relacionada con la disminución de la superficie de filtración glomerular, que lleva a la activación del Sistema Renina Angiotensina (SRA).

Numerosos estudios han demostrado que los pacientes hipertensos presentan menor número de glomérulos y que a su vez, estos glomérulos funcionalmente aptos se encuentran aumentados de tamaño, como etapa temprana de lesión renal, lo que posteriormente produciría una glomeruloesclerosis (4).

La glomeruloesclerosis o esclerosis de los glomérulos tienen diversas etiologías, pueden ser primarias o secundarias a una patología específica 5. Es una causa particularmente común de síndrome nefrótico. Como patogenia se ha planteado que a través de una hiperperfusión glomerular, con hiperfiltración y aumento de la presión hidrostática, se pueden producir lesiones glomerulares focales y segmentarias parecidas a las de la glomeruloesclerosis. Esto se ha podido observar experimentalmente extirpando un riñón y los cuatro quintos del otro. Las alteraciones morfológicas que se producen son expansión mesangial, microaneurismas y depósitos hialinos subendoteliales más o menos extensos. Para otros autores hay una participación importante del podocito como factor primario en el desarrollo de esta enfermedad (9).

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria se reproduce en el trasplante renal en aproximadamente la mitad de los casos, en general precozmente, manifestándose al comienzo con proteinurias masivas, a veces ya a las pocas horas de realizado el trasplante. En estos casos las lesiones segmentarias glomerulares aparecen a los pocos meses de iniciada la reproducción de la enfermedad (8).

Teniendo en cuenta estos parámetros nos parece importante abocarnos al estudio del efecto protector del enalaprilato en aquellas personas que presenten un menor número de nefronas, ya sea por una cuestión genética que predisponga a dicha persona a no poseer el número normal de glomérulos o quizás por un defecto en el desarrollo que conlleve la disminución ellas, podríamos evaluar el efecto que tendría sobre aquellas personas que deban ser sometidas a una extirpación renal con fines de donación de órganos y que puedan ser tratadas previamente para evitar consecuencias como HTA y diversas lesiones glomerulares asociada a dicho procedimiento. Estudios han mostrado luego de seguimientos a largo plazo de los donadores renales (11 años) que los mismo desarrollaron un 25% disminución del filtrado glomerular, un ligero aumento de la presión arterial y 56% proteinuria pero solo 10% albuminuria, y así varios otros seguimientos de pacientes monorrenos como donadores de riñón, aunque se desconoce sobre cambios histopatológicos de los riñones (10-12).

El objetivo del estudio es analizar el efecto antiproliferativo del enalaprilato en un modelo renal de esclerosis glomerular en ratas wistar nefrectomizadas.

MATERIALES Y METODOS

Fue un estudio experimental realizado en el laboratorio de la Cátedra de Fisiopatología de la Facultad de Ciencias Médicas de la Universidad Nacional de Asunción. Población: 20 ratas Wistar hembras que se distribuyeron en cuatro grupos iguales:

Grupo 1: tratamiento con enalaprilato posterior a la nefrectomía. **Grupo 2:** tratamiento con enalaprilato previo a la nefrectomía. **Grupo 3:** sin tratamiento con nefrectomía. **Grupo 4:** tratamiento con enalaprilato, sin nefrectomía

Animales, dieta y condiciones ambientales. Se utilizó 20 ratas Wistar, hembras de 1 mes y 15 días de vida y con peso entre 150-180g, se les dio una dieta con contenido proteico estándar, con libre acceso a comida y agua, se mantuvieron a una temperatura constante de 22°C y fueron expuestas a un ciclo de 12h con luz y 12h sin luz (**Figura 1**).



Figura 1. Ratas Wistar con alimento y agua libre

Nefrectomía: se realizó a los grupos 1,2 y 3 la nefrectomía unilateral derecha. Se anestesió a ratas con tiopental (10 ml/kg) y se extrajo uno de los riñones. La supervivencia a los tres días de la operación fue del 80 % de los animales. (**Figura 2**). El grupo 1 fue sometido a nefrectomía unilateral y al día siguiente inició el tratamiento con enalaprilato a la dosis de 60 mg/kg/día administrados por vía oral mediante cánulas orogástricas. (**Figura 3**)



Figura 2. Procedimientos para nefrectomía unilateral



Figura 3. Administración mediante cánula orogástrica

El grupo 2 fue sometido a nefrectomía unilateral 1 semana después de haber iniciado el tratamiento con enalaprilato (60 mg/kg/día V.O.), y luego de la nefrectomía continuó con el tratamiento hasta el último día.

El grupo 3, luego de la aclimatación, fue sometido a nefrectomía unilateral sin tratamiento.

El grupo 4 solo recibió tratamiento con enalaprilato (60 mg/kg/día V.O.) durante todo el estudio sin ser sometido a nefrectomía unilateral. La duración del tratamiento fue de 4 semanas.

Biopsia: Luego de las 4 semanas de tratamiento todos los grupos fueron sometidos a biopsia del riñón restante y a continuación fueron sacrificados.

Los riñones extraídos fueron derivados a la Cátedra de Anatomía Patológica donde fueron procesados y coloreados con tinción de H&E y Tricrómico de Masson para observarlos al microscopio óptico. (**Figura 4**)



Figura 4. Procesamiento en anatomía patológica

La observación al microscopio fue realizada con ayuda de un patólogo que no estaba al tanto del protocolo de estudio. El grado de la glomeruloesclerosis se expresó en una escala de 0 a 4 6. La puntuación glomerular para cada glomérulo fue: grado 0, glomérulo normal; grado 1, a partir de expansión mesangial / engrosamiento de la membrana basal y / o irregularidades en las luces de los capilares; grado 2, leve o moderada hialinosis segmentaria / esclerosis que afecta a menos del 50% del glomérulo; grado 3, hialinosis glomerular difusa / esclerosis que afecta a más del 50% del glomérulo; grado 4, glomeruloesclerosis difusa con destrucción total y colapso del glomérulo. El resultado para cada animal fue un promedio de la puntuación de 100 glomérulos.

Se cumplieron los principios básicos aplicables a las investigaciones biomédicas con animales elaborados por el Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS) y del Consejo Internacional de Ciencia y Animales de Laboratorio (ICLAS).

RESULTADOS

Todos los animales del estudio mostraron aumento de peso progresivo, similar en todos los grupos, con un promedio $9,61 \pm 1,17$ g de aumento desde el comienzo hasta el final del estudio. (Tabla 1).

	Día 0	semana 1	semana 2	semana 3	Semana 4	Semana 5
Grupo 1	163,5 g	163,5 g	172 g	176,5 g	180,5 g	217,4 g
Grupo 2	159 g	162,5 g	166 g	169 g	172,5 g	202,5 g
Grupo 3	165 g	170,5 g	177 g	187 g	189 g	211,5 g
Grupo 4	157 g	160 g	164 g	170,5 g	174 g	205,8 g

Tabla 1. Media de pesos por semana

El porcentaje de supervivencia tras la nefrectomía unilateral fue de 87% (13/15), el grupo no nefrectomizado no tuvo decesos.

En la biopsia renal se observó que el tamaño de los riñones fue bastante uniforme entre los distintos grupos, siendo de 20x10 mm. El peso presentó variaciones discretas: Grupo 1: 1,6±0,1 g. Grupo 2: 1,7±0,5 g. Grupo 3: 2±0,2 Grupo 4: 1,7±0,1 g. (**Tabla 2**).

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
Grupo 1	1,5 g	1,7 g	-	1,5 g	1,7 g
Grupo 2	1,5 g	1,5 g	-	1,7 g	2,2 g
Grupo 3	1,9 g	1,8 g	2,1 g	2 g	2,2 g
Grupo 4	1,6 g	1,6 g	1,8 g	1,8 g	1,8 g

Tabla 2. Peso de los riñones

El grado máximo de glomerulosclerosis encontrado fue grado 1, distribuido de la siguiente manera: El grupo 1 presentó 50% (2/4) de afectación, el grupo 2 presentó 25% (1/4), el grupo 3 presentó 60% (3/5) y el grupo 4 no presentó afectación. (**Tabla 3**).

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5
Grupo 1	Grado 1	Grado 0	-	Grado 0	Grado 1
Grupo 2	Grado 0	Grado 1	-	Grado 0	Grado 0
Grupo 3	Grado 0	Grado 1	Grado 0	Grado 1	Grado 1
Grupo 4	Grado 0	Grado 0	Grado 0	Grado 0	Grado 0

Tabla 3. Media del grado de afectación de los glomérulos

DISCUSIÓN

La tasa de supervivencia en las ratas con nefrectomía unilateral fue de 87% por lo cual se demuestra que no es un procedimiento agresivo al contrario de la nefrectomía 5/6 que muestra un mayor porcentaje de muerte.

En un estudio de ratas en el que se les realizó una nefrectomía 5/6, realizado en el Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas de la Universidad de Salamanca, se dio una elevada mortalidad sin tratamiento preventivo durante 6 meses, mientras que con las ratas tratadas con Verapril, se vio que disminuía levemente la mortalidad; la tasa de supervivencia con Trandolapril fue del 87%, y con el uso combinado, del 100%, ambas drogas son parecidas al Enalaprilato. En la actualidad hay varios trabajos que han demostrado que posee propiedades protectoras a nivel renal, evitando la hiperfiltración y proliferación glomerular, la cual acabaría produciendo glomeruloesclerosis y a la larga insuficiencia renal crónica 8,9.

En nuestro estudio que tuvo una duración de 1 mes, al grupo que se le practicó la nefrectomía y que no tuvo tratamiento posteriormente, fue el que mostró en mayor porcentaje glomeruloesclerosis de grado 1 (60%), demostrándose así que pudieron sobrevivir perfectamente con un riñón pero que puede haber en algunas, engrosamiento de la membrana basal con expansión mesangial.

En el grupo que tuvo tratamiento con Enalaprilato posterior a la nefrectomía presentó el grado 1 en un 50%; el grupo que tuvo tratamiento con Enalaprilato previo a la nefrectomía tuvo grado 1 en un 25%, lo cual refleja que tuvo probablemente mayor efecto protector contra la glomeruloesclerosis que el grupo G1 y G3, lo que queda pendiente evaluar porque iniciar el enalapril antes de una nefrectomía protegería de la esclerosis renal de forma más eficaz que iniciarlo después de la nefrectomía.

En un estudio en el que se buscaba la eficacia del Enalapril en pacientes monorrénicos en pacientes con dieta normoproteica o sin ella, se vio que la eficacia del Enalapril para reducir riesgos como la microalbuminuria fue del 79% lo cual es recomendable su uso para preservar la función renal a través del tiempo 10.

En conclusión el enalaprilato previene el grado I de glomeruloesclerosis y aparentemente administrado antes de la nefrectomía (Grupo 2) la evolución de la esclerosis disminuye en relación a los otros grupos. En este estudio se pudo comprobar el efecto antiproliferativo del IECA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Santeliz Contra H, Romano Estrada L, González Chávez A, Hernández Hernández H. El sistema renina-angiotensina-aldosterona y su papel funcional más allá del control de la presión arterial. *Rev Mex Cardiol.* 2008;19:21-29.
2. Battle D, Soler M, Wysocki, J. New aspects of the renin-angiotensin system: angiotensin-converting enzyme 2-a potential target for treatment of hypertension and diabetic nephropathy. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008;17:250-257.
3. Flores O, Arévalo M, Gallego B, Hidalgo F, Vidal S, López-Novoa JM Beneficial effect of the long-term treatment with the combination of an ACE inhibitor and a calcium channel blocker on renal injury in rats with 5/6 nephrectomy. *Exp Nephrol.* 1998;6:39-49.
4. Fernández Andrade C. Renina: descubierta en 1898, inhibida en 2008. Historia de su investigación. Evolución y desarrollo de sus inhibidores. *Rev Esp Cardiol.* 2009;9(Supl A):1-23

5. Guyton AC, Coleman TG, Cowley AV Jr, Scheel KW, Manning RD Jr, Norman RA Jr. Arterial pressure regulation. Overriding dominance of the kidneys in long-term regulation and in hypertension. *Am J Med.* 1972;52(5):584-94
6. Couser WG. Basic and Translational Concepts of Immune-Mediated Glomerular Diseases. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:381–399
7. Rosenberg HG. Primary glomerular diseases (primary glomerulopathies). *Pathol Res Pract.* 1986;181:489-523.
8. Marín R, Álvarez-Navascués R, Fernández-Vega F. Bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona en hipertensión arterial, diabetes y nefropatía. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2008;8:30E-8E.
9. Adamczak M, Gross M, Krtil J, Koch A, Tyralla K, et al. Reversal of glomerulosclerosis after high-dose enalapril treatment in subtotaly nephrectomized rats. *J Am Soc Nephrol.* 2003;14:2833–2842.
10. Liern M, Maldonado L, Jordán P, Vallejo G. Efficacy of Enalapril in patients with single kidney and with or without normoprotein diet. *Arch Argent Pediatr.* 2008;106:416-21
11. Gossman J, Wilhelm A, Kachel HG, Jordan J, Sann U, Geiger H, Kramer W, Scheuermann EH. Long-term consequences of live kidney donation follow-up in 93% of living kidney donors in a single transplant center. *Am J Transplant.* 2005;5:2417-24.
12. Ibrahim H, Foley R, LiPing T, Long-Term Consequences of Kidney Donation. *N Engl J Med.* 2009;360: 459–469

