

Facultad de Ciencias Médicas “Enrique Cabrera”
Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón”
Escuela Latinoamericana de Medicina

Hipertensión arterial experimental por medio del uso de un bloqueador competitivo de angiotensina II

Dra. Maria Ofelia Barber Fox, Dr. Ernesto Barber Gutiérrez† y Dra. María Fox Pascual

RESUMEN

Se utilizó la saralasin, un bloqueador competitivo de la angiotensina II, con el propósito de incrementar el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtración glomerular, para estudiar sus posibles consecuencias tubulares y sobre la presión arterial. Fueron divididas 40 ratas de la línea Wistar, inicialmente normotensas, en 4 grupos: saralasin, supresión, grupos controles corrieron paralelos. Se les realizaron a todos mediciones de variables hemodinámicas sistémicas y renales, así como morfométricas del riñón. Los resultados apoyaron la hipótesis de la participación de la hiperfunción tubular en la génesis de la hipertensión arterial primaria y propusieron un nuevo modelo de hipertensión arterial experimental en ratas.

Palabras clave: Hipertensión arterial; hipertrofia tubular; saralasin; función renal; angiotensina II.

La relación del sistema renal con la hipertensión arterial ha sido objeto de investigación y estudio a través del tiempo por múltiples científicos;^{1,2} esto se ha debido al papel clave que posee el riñón en el desarrollo de la enfermedad hipertensiva, así como por tratarse del mecanismo renal, aquel predominante en la regulación a largo plazo de la presión arterial.^{3,4}

En las últimas décadas, pueden observarse 2 vertientes principales de investigación en relación con el tema: la relacionada con el estudio de los factores que afectan la función glomerular y aquella relacionada con el estudio de los factores que afectan la función tubular. En ambos casos a partir de la incapacidad renal de excretar agua y sal aparece una retención hidrosalina, aumento del volumen sanguíneo, así como del gasto cardiaco, que conllevarían al incremento de la presión en el circuito arterial. Sin embargo, puede observarse en las referencias bibliográficas, un menor número de investigaciones que abordan la segunda de las 2 vertientes, o sea, el posible papel del túbulo renal en el desequilibrio del manejo del sodio por el riñón.

Por otra parte, sobre la base del conocimiento de que un desbalance glomérulo-tubular a predominio tubular puede ser un mecanismo responsable de la menor eliminación renal de agua y sal, y de la retención de líquido en el organismo, con la consecuente elevación de la presión arterial; esto ha sido establecido anteriormente por nosotros a través de la

administración a ratas normotensas (PRESIÓN sistólica 100-120 mm de Hg)), de un inhibidor de la liberación de renina: el propanolol.⁵ Así, se determinó producir un desbalance glomérulo-tubular, provocando hipertrofia de los túbulos, a través del aumento mantenido de flujo sanguíneo a los riñones de los animales, estudiando los posibles efectos renales y sobre la presión arterial, que pudiera tener tal fenómeno.

La hipótesis se basó en la relación de dependencia de la hipertrofia renal compensatoria a la nefrectomía unilateral, con respecto a los incrementos mantenidos, *a priori*, del flujo sanguíneo renal (FSR).⁶

Basados en esta hipótesis y por el conocido efecto que posee la angiotensina II (AII) sobre la hemodinámica renal y en esencia la disminución que esta produce en el FSR, se decidió utilizar un inhibidor competitivo de este octapéptido, la saralasinina o sar1-val5-ala8 angiotensina II, la cual provoca un bloqueo de los receptores AT1 y AT2,⁷⁻⁹ y de esta forma, estudiar las posibles efectos de la saralasinina sobre la morfofunción de los túbulos renales y sobre la presión arterial; eliminando así otros factores que intervienen en la cascada enzimática de la formación de AII y que pudieran responsabilizarse de posibles cambios de la presión arterial.

MÉTODOS

La realización de los experimentos en el Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas “Victoria de Girón” tomó 3 años, donde mediciones de variables hemodinámicas sistémicas y renales, así como morfométricas del riñón, se realizaron a 40 ratas inicialmente normotensas (presión sistólica 100-120 mm de Hg), de la línea Wistar, con pesos entre 150 y 200 g, tratadas con saralasinina durante 20 d (0,05 mg × 100 g-rata, diario, por vía intraperitoneal) y sus controles (agua destilada solamente). Posteriormente estos animales fueron sometidos a supresión del fármaco por un período de tiempo de 15 d, después de lo cual se les realizó el estudio final.

En la figura 1 se ilustra el proceder experimental que se aplicó. El estudio final consistió en las determinaciones de FSR e Intensidad de filtración glomerular (IFG), utilizando técnica estándar de aclaramiento plasmático renal de para-aminohipurato (pah) e inulina, respectivamente. De manera adicional se calcularon las cargas tubulares (CTNa), reabsorbidas (CRNa), excretadas (ENa), excreciones y reabsorciones fraccionales, de sodio (ENa/CTNa y CRNa/CTNa). Además se calculó el máximo de transporte tubular de pah (T_{mpah}).^{10,11}

Fig 1. Proceder experimental que se aplicó a 40 ratas, para realizar las mediciones de los distintos grupos de variables: hemodinámicas, morfológicas y funcionales del riñón.

El estudio morfométrico consistió en el pesaje de los riñones y la medición de los volúmenes tubulares proximales y de la pared de este segmento tubular, por ser el segmento donde se desarrolla el mayor porcentaje de transporte reabsortivo de toda la nefrona, según lo descrito por la técnica de *Weibel*.¹² (15 líneas para estructuras dispuestas al azar).

La presión arterial sistólica fue registrada en la arteria de la cola de las ratas, según lo descrito en la técnica de *Riva Rocci*¹³ al inicio de los experimentos, al final del período de tratamiento (20 d) y al finalizar el período de supresión (35 d).

El análisis de los resultados se realizó mediante el cálculo de las medias y desviaciones estándar, utilizando el sistema computacional Excel; para realizar las comparaciones entre estas se aplicó una ANOVA de una sola vía y como *test* complementario el *Test* de Duncan, utilizando el paquete estadístico SPSS.

RESULTADOS

La administración de saralasin a ratas normotensas determinó cambios en la morfofunción renal así como, en la presión arterial.

Flujo plasmático renal

En los animales que recibieron saralasin, el FSR se incrementó significativamente y retornó a valores sin diferencia significativa con los controles, después del período de supresión del fármaco (fig. 2).

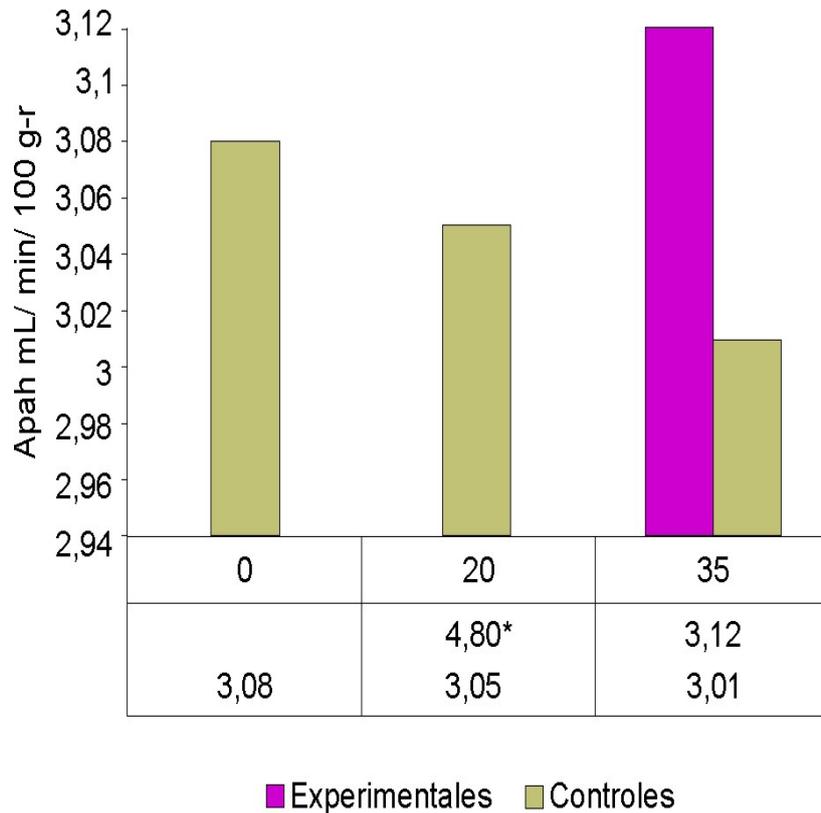


Fig. 2. Incremento significativo del FSR en los animales que recibieron saralasin, sin diferencia significativa con los controles, después del período de supresión del fármaco.

Intensidad de filtración glomerular

Variación semejante a la observada en las mediciones de flujo, fue obtenida de las determinaciones del aclaramiento plasmático de inulina, como medida de la IFG, la cual estuvo incrementada en el grupo SARALASINA y retornó a valores 19 % por encima de los controles después del período de supresión (SUPRESIÓN), variaciones estas que fueron significativas entre ambos grupos y con respecto a los grupos controles (fig. 3).

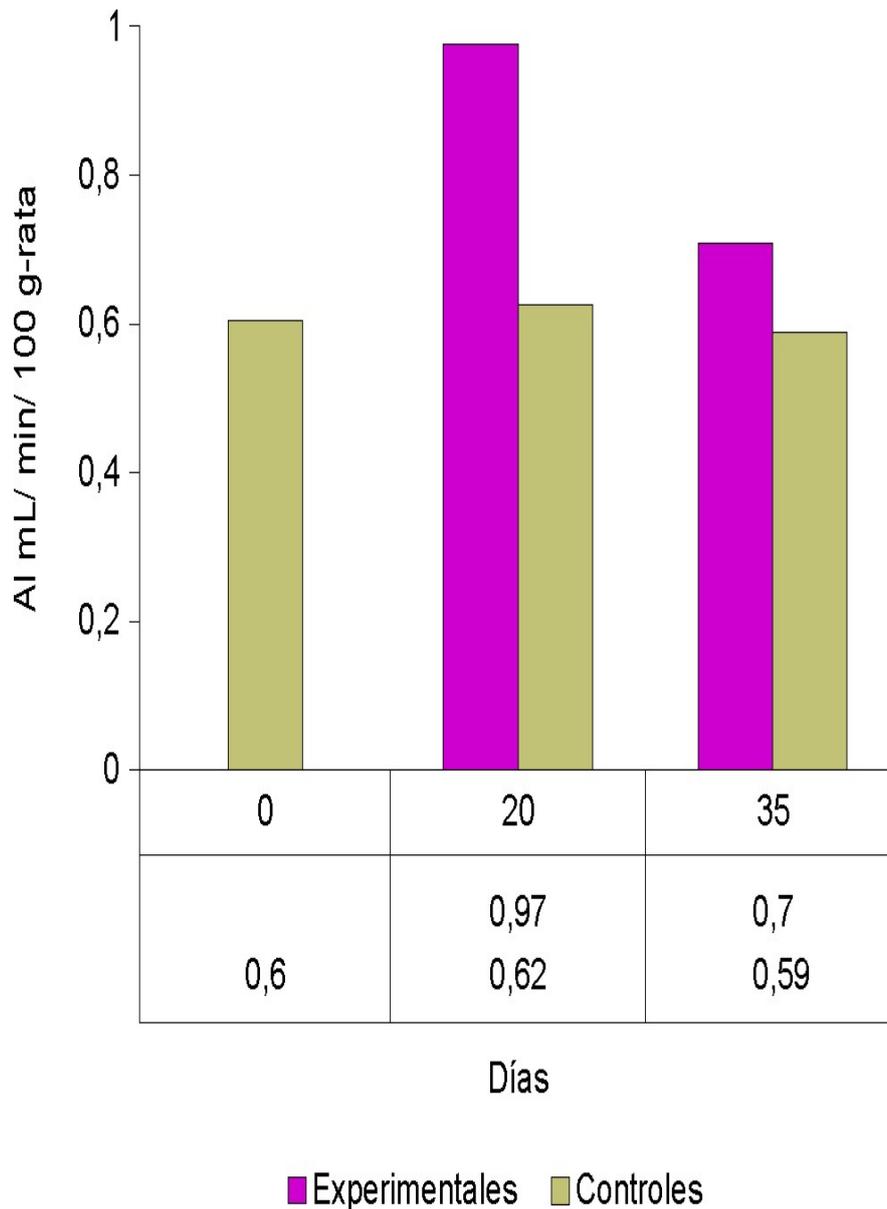


Fig. 3. Efecto de la administración de saralasin y su supresión sobre la Intensidad de filtración glomerular (AI: aclaramiento plasmático renal de inulina), en ratas.

Los cambios encontrados en las mediciones de flujo y filtración fueron proporcionales, lo que determinó la no variación de la fracción de filtración (FF) (tabla 1).

Tabla 1. Efecto de la administración de saralasin y su supresión sobre la fracción de filtración. Los valores están expresados en media y desviación estándar

Grupos	n	Fracción de filtración
Saralasin	9	0,202 ± 0,07
Control	10	0,203 ± 0,07 NS
Supresión	9	0,220 ± 0,09
Control	10	0,196 ± 0,06

NS: no significativo.

Máximo tubular de para-amino hipúrico

En la tabla 2 se muestran los resultados obtenidos en el estudio de la máxima capacidad de transporte tubular de secreción de para-amino hipúrico (Tmph), el cual mostró incremento de 40 % en los animales tratados con saralasin, que se mantuvo con posterioridad a la supresión del fármaco.

Tabla 2. Efecto de la administración de saralasin y su supresión sobre el máximo tubular de PAH, en ratas. Los valores están expresados en media y desviación estándar

Grupos	n	TmPAH (mg/min/100 g-rata)
Saralasin	9	0,421 ± 0,081 *
Control	10	0,303 ± 0,070
Supresión	9	0,416 ± 0,064 *
Control	10	0,299 ± 0,050

*: p < 0,01.

Manejo renal del sodio

En la tabla 3 se reportan los cambios ocurridos en relación con el sodio, reflejados en las determinaciones de las variables renales relacionadas con el manejo de este ion por este órgano.

Tabla 3. Efecto de la administración de saralasin y supresión sobre la concentración plasmática, carga tubular, reabsorción tubular, fracción de reabsorción, excreción renal, y fracción de excreción de sodio. Los valores están expresados en media y desviación

Grupo	n	PNa mEq/L/100 g-rata	CTNa mEq/min/100 g-rata	CRNa mEq/min/100 g-rata	CRNa/CTNa	ENa mEq/min/100 g-rata	ENa/CTNa
Saralasin	9	139 ± 4,5	0,136 ± 0,03*	0,122 ± 0,027*	0,89 ± 0,042	0,012 ± 0,0043	0,093 ± 0,06 *
Control	10	140 ± 6,1	0,087 ± 0,022	0,076 ± 0,016	0,86 ± 0,045	0,012 ± 0,003	0,136 ± 0,022
Supresión	9	138 ± 3,9	0,101 ± 0,02*	0,092 ± 0,01*	0,91 ± 0,029 *	0,011 ± 0,004	0,108 ± 0,02 *
Control	10	141 ± 4,2	0,086 ± 0,02	0,076 ± 0,015	0,88 ± 0,032	0,011 ± 0,005	0,133 ± 0,026

estándar

*: p < 0,01.

Como puede observarse en la tabla, la concentración plasmática de sodio no varió en ninguno de los grupos estudiados. Sin embargo, las cargas tubulares de este ion, se

incrementaron a 51 % en el grupo bajo tratamiento con saralasin y la recuperación en el grupo SUPRESION no fue total, quedándose por encima de los valores de los controles en 17 %, hechos que fueron estadísticamente significativos.

Similares resultados a los anteriores fueron observados cuando se calculó la cantidad reabsorbida del ion (CRNa). Esta se elevó de manera significativa en los animales que recibieron saralasin y resultó 60 % mayor que la de los controles. En los animales a los cuales la droga fue suprimida durante 15 d, la CRNa retornó a 21 % mayor que los controles para este tiempo. Sin embargo, la fracción de reabsorción no cambió en los animales tratados con saralasin mientras esta se incrementó a 3 % estadísticamente significativo de los controles en el grupo SUPRESION.

Por otra parte la excreción de sodio no mostró cambios significativos entre los grupos experimentales y los controles. Mientras la fracción de excreción de este electrólito mostró marcada disminución en los animales tratados con saralasin, disminución que no se recuperó en los animales después de suprimida la droga, siendo significativamente diferente de los controles.

Peso renal

Otro hecho significativo en el estudio de estos animales fue el crecimiento bilateral de los riñones, como consecuencia de la administración de saralasin, como puede ser observado en la figura 4 A, en la cual se muestra el incremento en el crecimiento del riñón derecho (24 %), a los 20 d de recibir la droga (grupo SARALASINA), incremento que se mantuvo, sin diferencias significativas 15 d después de la supresión de la saralasin (Grupo SUPRESION). Un comportamiento similar presentó la medición del peso de los riñones izquierdos, fenómeno que se refleja en la figura 4-B.

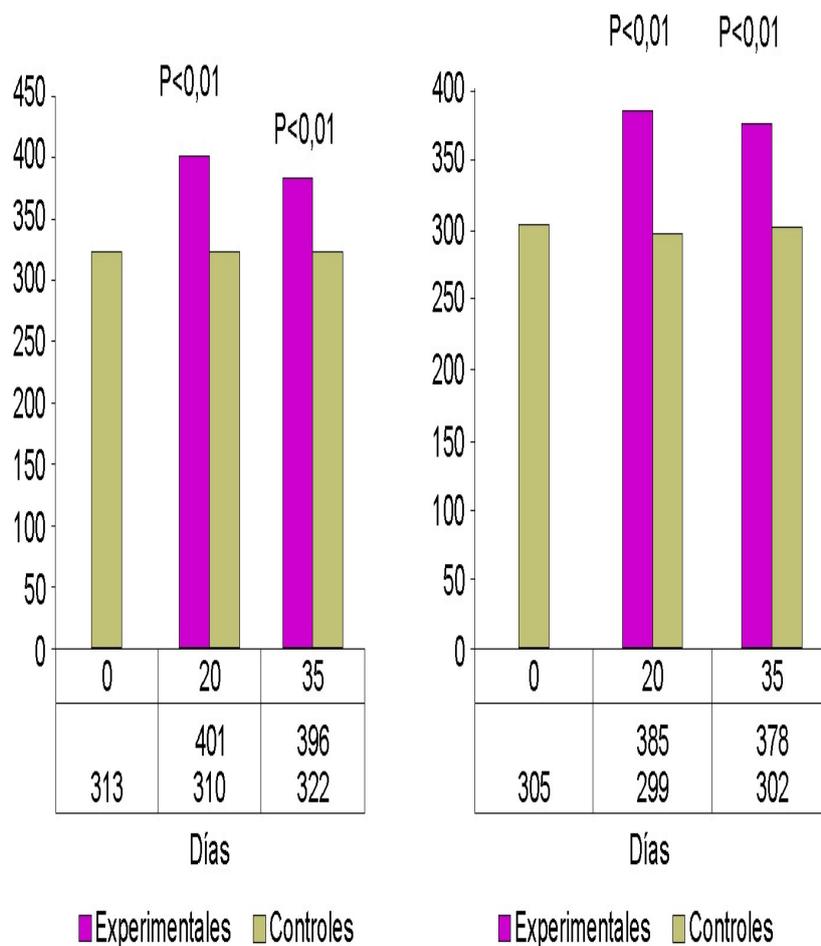


Fig. 4. Crecimiento bilateral de los riñones, como consecuencia de la administración de saralasin.

Ambos riñones crecieron de forma similar en todos los animales experimentales, por lo que no aparecieron diferencias significativas entre las mediciones del peso de estos órganos.

Volumen tubular, volumen de la luz y volumen de la pared proximal

El crecimiento renal antes descrito dependió en gran medida de la hipertrofia tubular proximal encontrada en estos órganos, lo cual se hizo evidente cuando se les realizó el estudio morfométrico, donde creció la fracción ocupada por los túbulos proximales, de manera significativa, en los riñones de todos los animales experimentales (grupos SARALASINA y SUPRESION).

Mediciones del área ocupada por la luz y la pared de los túbulos demostraron la preponderancia de la hipertrofia de la pared como determinante del incremento del volumen tubular antes mencionado, porque mientras la luz tubular regresó a valores similares a los controles al suprimir el fármaco, no ocurrió lo mismo al volumen de la pared, el cual se mantuvo incrementado desde la administración de saralasin, donde alcanzó 22 % de incremento (tabla 4).

Tabla 4. Efecto de la administración de la saralasin y su supresión sobre los volúmenes tubular proximal, luminal tubular proximal y de la pared tubular proximal. Los valores están expresados en media y desviación estándar

Grupo	n	VTP	VPP	VLP
Saralasin	38	0,794 ± 0,010 *	0,663 ± 0,005 *	0,146 ± 0,003
Control	39	0,693 ± 0,012	0,544 ± 0,008	0,138 ± 0,005
Supresión	37	0,806 ± 0,009 *	0,66 ± 0,007 *	0,141 ± 0,003
Control	40	0,690 ± 0,011	0,539 ± 0,006	0,139 ± 0,004

*: $p < 0,01$.

Presión arterial sistólica

El registro de la presión arterial sistólica de los animales normotensos, confirmó la certeza de tal selección cuando las mediciones, realizadas al inicio de los experimentos (tiempo 0), mostraron valores normales ($X=111,75$ mm Hg) para todos los grupos planeados. De manera similar ocurrió con los resultados de esta medición a los 20 d del tratamiento con saralasin.

Sin embargo, 15 d después de suprimido el fármaco, se registraron incrementos de la presión arterial ($X = 180,7$ mm Hg). Estos resultados aparecen en la tabla 5.

Tabla 5. Efecto de la administración de saralasin y su posterior supresión sobre la presión arterial sistólica, en ratas. Los valores están expresados en media ± desviación estándar

Grupo	n	t = 0	Fin. Trat.	Fin. Sup. 1
Saralasin	38	114 ± 7.1	115 ± 10.8	-
Control	39	110.8 ± 5.05	116 ± 8	-
Supresión	37	111 ± 6.4	117 ± 13.7	180 ± 14.52 *
Control	40	112 ± 7	116.4 ± 11.1	116 ± 7.44

*: $p < 0,01$.

DISCUSIÓN

El análisis de los resultados reflejó en primer lugar, que fueron seleccionados para los experimentos animales normotensos, mostrado por los valores de la PAS en todos los grupos de animales controles.

Ratas con las características antes mencionadas, fueron sometidas a tratamiento con saralasin durante 20 d, al final del cual se caracterizaron por:

- Tensión normal dada por los registros de la PAS.
- Incremento del FSR y la IFG, dados por los aclaramientos de para-amino hipúrico e inulina, respectivamente. Así como incremento de la pared tubular proximal en el estudio morfométrico renal realizado.
- Hipertrofia tubular proximal y aumento del peso de ambos riñones.
- Hiperfunción tubular que se observó en el incremento del Tmpah, CRNa.

Debido a que los registros fueron realizados al final de la condición experimental, en que se vieron los cambios ocurridos, el proceso o mecanismo de su ocurrencia se dedujo como sigue:

Toda vez que se le administró a los animales saralasin, un fármaco de reconocida acción vasodilatadora, por antagonismo competitivo con la angiotensina II, impidió a esta última su acción vasoconstrictora, lo cual devino en una vasodilatación en el sistema renal fundamentalmente, que explica el aumento de FSR.

El incremento de la IFG con constancia de la FF, indica que en esta ocasión se mantuvo la flujo-dependencia de las variaciones de la filtración, lo cual es una consecuencia indirecta de la acción del vasodilatador en el riñón.

El aumento de la IFG debió resultar en incremento de las cargas tubulares de las sustancias filtradas, hecho que fue comprobado en estos experimentos por las determinaciones de las CTNa.

Mayores cargas tubulares podrían haber determinado la hipertrofia tubular encontrada, por un posible mecanismo de sobrecarga reabsortiva, dado por el aumento de las CRNa.

Así los incrementos de la IFG provocados por la administración de saralasin alterarían el balance glomerulo-tubular hacia una preponderancia glomerular, desviación esta que podría resultar compensada por la hipertrofia tubular proximal y las mayores CRNa, lo cual impediría cambios significativos en las excreciones urinarias y concentraciones plasmáticas de sodio, cuando al final del período de tratamiento se estudiaron los animales.

Culminado el tratamiento, se suprimió la droga durante 15 d y los resultados para este grupo se sintetizan en los hechos siguientes:

- FSR normal.
- Disminución de la IFG a valores próximos a los normales y el volumen de la luz tubular proximal.
- Mantenimiento de la hipertrofia tubular proximal y el incremento de la capacidad funcional tubular, dado por los valores de PR, de VTP, VPP, así como el Tmpah, CRNa.

De esta manera se pone en evidencia la generación de uno de los factores que según *Guyton* y otros pueden aumentar la presión en la curva de excreción renal y provocar hipertensión arterial,¹⁴ generándose así un modelo experimental de hipertensión arterial

volumen-dependiente en ratas. A lo anterior puede añadirse con el paso del tiempo la participación de otros factores que pudieran ser desencadenados por estas condiciones y contribuirían a una mayor retención hidrosalina o a incrementar la resistencia periférica total, como la liberación de hormona natriurética, la disfunción endotelial, cuyos efectos se adicionarían a los experimentalmente desarrollados en este modelo y contribuirían al mantenimiento de la hipertensión.^{15,16} En tal sentido nuevas investigaciones se hacen necesarias sobre este modelo de hipertensión volumen-dependiente para su caracterización en mayores períodos de supresión de la saralasin y donde otras variables hemodinámicas sistémicas sean estudiadas.¹⁷

En conclusión, la administración de saralasin provoca sobrecarga tubular e hipertrofia de los túbulos renales; la supresión de la droga, provoca retención hidrosalina e hipertensión arterial. Por tanto, se ha generado un nuevo modelo de hipertensión arterial experimental túbulo-dependiente.

Experimental arterial hypertension by using an angiotensin II competitive blocker

SUMMARY

Saralasin, an angiotensin II competitive blocker, was used aimed at increasing the blood renal flow and the rate of glomerular filtration to study its possible tubular consequences and its effects on arterial pressure. 40 initially normotensive Wistar rats were divided into 4 groups: saralasin, suppression and control groups went parallel. Measurements of the hemodynamic systemic and renal variables, as well as morphometric measurements of the kidney were made. The results supported the hypothesis of the tubular participation in the genesis of primary arterial hypertension and a new model of experimental arterial hypertension in rats was recommended.

Key words: Arterial hypertension, tubular hypertrophy, saralasin, renal function, angiotensin II.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Frey BAJ, Grisk O, Bandelow N, Wussow S. Sodium homeostasis in transplanted rats with a spontaneously hypertensive rat kidney. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000;279:1099-104.
2. Herrera VL, López LV, Ruiz-Opazo N. Alpha 1 Na,K-ATPase and Na,K,2Cl-cotransporte/D3mit3 loci interact to increase susceptibility to salt-sensitive hypertension in Dahl S(HSD) rats. *Mol Med* 2001;7(2):125-34.
3. Guyton AC, Coleman AW, Cowley K. Arterial pressure regulation: overriding dominance of the kidney in long-term regulation and in hypertension. In: *Hypertension Mechanisms*, Laragh JH ed. New York: York Medical Books; 1975. p. 1-24.
4. Wright J, Kalra P. The Kidney in Hypertension. *The Practitioner* 2001;245:41-6.

5. Chaple M, Barber E, Castillo J, Fox MO, Barber MO. Efectos hemodinámicos de la supresión del propranolol en ratas. *Rev Cubana Invest Biomed* 1996;15(2):86-90.
6. Chaple M, Barber E, Rey S, Román W, Castillo J, Chauvín A y Barber MO. Estudio de variables morfofuncionales renales en jóvenes con hipertensión arterial primaria. *Rev Cubana Invest Biomed* 1996;15(1):38-42.
7. Lumbers ER. Angiotensin and aldosterone. *Regulatory Peptides* 1999;80:391-00.
8. Hall JE, Brands MW, Henegar JR. Angiotensin II and long-term arterial pressure regulation: the overriding dominance of the kidney *J Am Soc Nephrol* 1999;10(12):258-65.
9. Reynolds JE. MARTINDALE. The extra farmacopeia: Saralasin. London: The pharmaceutical Press; 1989; 165-7.
10. Smith HW, Tinkelstein N. The renal clearance of substituted hipuric acid derivatives and other aromatic acids in dog and man. *J Clin Invest* 1945;24:388.
11. Schreiner G. Determination of inulin by means of resorcinol. *Pro Soc Exper Biol Med* 1950;70:726.
12. Weibel ER. Principles and methods for the morphometric study of the lung and other organs. *Lab Invest* 1963;12:131.
13. Hecht K. Hipocamp role in experimental neurosis. Neurotic disregulation of the blood pressure in: physiological theatrical and practical aspect in psiquiatric. La Habana: Ed. Científico Técnica; 1979. p.556-9.
14. Guyton AC. Renal function curve: a key to understanding the pathogenesis of hypertension. *Hypertension* 1987;10:1.
15. Kristina Brännström and William J. Arendshorst. Resetting of exaggerated tubuloglomerular feedback activity in acutely volume-expanded young SHR. *Am J Physiol Renal Physiol* 1999;276:409-16.
16. Suárez PJ. Liberación de óxido nítrico inducida por el flujo sanguíneo. Novedades y perspectivas de investigación liberación de ON. Disponible en: edigraphyc.com [fecha de consulta: 20 de mayo de 2002].
17. Dubravcic-Luksic A. Hipertensión arterial. Nefrored. Disponible en: Web integrada en Portales Médicos.com. [Fecha consulta: 18 de junio de 2003].

Recibido: 6 de octubre de 2005. Aprobado: 10 de noviembre de 2005.

Dra. *Maria Ofelia Barber Fox*. Vento No. 9504 e/ 6 y 10 Altahabana, Boyeros, Ciudad de La Habana, Cuba. Teléf.: 44-1210. Correo electrónico: mobf@infomed.sld.cu