

TRABAJOS ORIGINALES

Alteraciones en las características morfométricas del riñón de ratas albinas machos provocadas por la ingestión crónica de etanol desde la adolescencia**Alterations in the morphometric features of kidney of male albino rats provoked by chronic ingestion of ethanol from the adolescence****Aleida Herrera Batista^I; Giselle Puldón Seguí^{II}; Héctor Ruiz Candina^{III}**

^IDoctora en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Histología. Profesora Consultante y Titular. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

^{II}Especialista de I Grado en Histología. Profesor Auxiliar. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

^{III}Especialista de I Grado en Estomatología General Integral. Instructor. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. La Habana, Cuba.

RESUMEN

En el presente trabajo se pretendió determinar las variaciones que sobre las características morfométricas del riñón provoca la ingestión crónica de etanol en ratas adolescentes, para lo cual se utilizaron 42 ratas albinas machos de 30 días de nacidas con las cuales se conformaron dos grupos de 21 animales cada uno y con tiempos de tratamiento de tres y cinco meses y con estos, dos subgrupos: experimental y control. A las ratas experimentales se les suministró etanol a dosis de 5 g/kg de peso corporal mediante cánula intraesofágica. A las controles se les administró agua en lugar de etanol, en iguales condiciones. Se emplearon cortes histológicos coloreados con técnica PAS y se estudiaron las porciones contorneadas de los túbulos proximales y distales. Se calculó el área de sección transversal tubular y se midieron los volúmenes nucleares de las células de ambos túbulos. Se comprobó que las ratas experimentales mostraron volúmenes nucleares menores que las controles. El grupo experimental mostró valores de áreas de sección transversal de los túbulos renales mayores que los controles, siendo estos valores superiores en los túbulos proximales en las ratas de cinco meses, y los distales en las ratas de tres meses. Se concluyó que en la muestra estudiada el alcoholismo crónico iniciado en la adolescencia provocó variaciones morfométricas en los túbulos proximales y distales del riñón.

Palabras clave: Adolescencia, alcoholismo crónico, volumen nuclear, riñón, rata, túbulos renales, morfometría.

ABSTRACT

Present paper allowed us to determine the variations exerted by the chronic ingestion of ethanol from the adolescence on the kidney morphometric features in 42 male albino rats of 30 days born divided into two groups of 21 animal each and with the treatment times of three and five months and with these 42 animals into two subgroups: one of experimental type and other as control. The experimental rats received ethanol at 5 g/kg doses according to the body weight using an intraesophageal cannula. The control ones received water instead of ethanol in similar conditions. We used histological sections stained with PAS technique to study the outlined portions of the proximal and distal tubules. The tubular transversal section area was estimated measuring the nuclear volumes of cells in both tubules. It was demonstrated that the experimental rats showed higher values of the transversal section of renal tubules higher than the control ones, where these values were superior in proximal tubules in the five months old rats and the distal ones in the three months old. We conclude that in study sample the chronic alcoholism started during adolescence provoked morphometric variations in proximal and distal tubules of kidney.

Key words: Adolescence, chronic alcoholism, nuclear volume, kidney, rat, renal tubules, morphometry.

INTRODUCCIÓN

El uso y abuso de bebidas alcohólicas constituye un grave problema de salud a nivel internacional. El alcohol es una droga que eleva la morbimortalidad del individuo, causando la pérdida de millones de vidas humanas cada año a nivel mundial.¹⁻⁴ Por otra parte se reporta que el consumo de la misma se ha incrementado en la población comprendida en el período de la adolescencia.^{5, 6} En la actualidad se considera al alcoholismo como una enfermedad crónica incurable.¹

En Cuba se ha elevado el consumo de bebidas alcohólicas entre los adolescentes, no obstante esto, en el contexto nacional son limitadas las investigaciones sobre el uso de alcohol en estas poblaciones. Hace más de dos décadas el alcohol ocupa el primer lugar entre las drogas que consumen los jóvenes a nivel mundial y presenta un patrón de consumo esporádico, intensivo, fuera del hogar y con sus pares.^{1, 6, 7}

Por otra parte se ha planteado que el abuso en la ingestión de alcohol provoca un incremento en la presión arterial,^{8,9} así como un amplio rango de disturbios electrolítico y ácido-básico en el organismo. La severidad de los daños ha sido relacionada con la cantidad y el tiempo transcurrido ingiriendo bebidas alcohólicas, así como enfermedades asociadas como la malnutrición, enfermedades hepáticas crónicas y otras enfermedades intercurrentes.^{2,10,11}

Existen evidencias que sustentan la hipótesis que el consumo habitual del tóxico provoca una variedad de efectos en el riñón y se ha reportado que la ingestión aguda de grandes cantidades de etanol puede provocar un síndrome de necrosis tubular aguda.⁹

Todo lo antes expuesto hace que el estudio del alcoholismo en la adolescencia sea un importante problema para la salud pública. Y por otra parte la utilización de modelos experimentales animales puede servir para aclarar aspectos importantes en el estudio de esta enfermedad, sus consecuencias y en su tratamiento.

Teniendo en cuenta que en la literatura no se cuenta con datos que aborden las posibles alteraciones morfométricas que el alcoholismo crónico provoca sobre el riñón, el siguiente trabajo se propuso como objetivo evaluar los cambios de algunas variables morfométricas a nivel de los túbulos del riñón de ratas albinas alcohólicas crónicas desde la adolescencia.

MÉTODOS

Se emplearon 42 ratas albinas machos de 30 días de nacidas con las cuales se conformaron dos grupos de 21 animales cada uno y con tiempos de tratamientos de tres y cinco meses. Con estos se conformaron dos subgrupos, experimental (E) y control (C). A las ratas del grupo E se les suministró etanol al 40 % a una dosis de 5 g/kg de peso corporal. La vía de administración empleada fue la oral, mediante una cánula intraesofágica. A las ratas del grupo C se les administró agua en iguales condiciones. Ambos grupos de animales vivieron en condiciones higiénicas y se les suministró pienso y agua ad limitum durante el tratamiento.

Al término del experimento las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital sódico a una dosis de 40 mg/kg de peso corporal, se extrajeron ambos riñones a los cuales se les realizó un corte sagital y ambas mitades se fijaron en formalina tamponada al 12 %. Se deshidrataron en alcoholes crecientes, se aclararon con xilol y fueron procesados por el método de la parafina. Se obtuvieron cortes histológicos de 7 micrómetros (μm).

Para el estudio morfométrico se emplearon láminas coloreadas con la técnica de PAS (según Mac Manus 1948).¹² Se realizó el estudio de las porciones contorneadas de los túbulos proximales y distales. Las mediciones se efectuaron utilizando un microscopio Karl Zeiss con ocular milimetrado (7x), optovar 1,6 y objetivo de inmersión (100x).

Para el cálculo del volumen nuclear se utilizó el método de Palkovits.¹³ Se midieron 10 núcleos de túbulos proximales y 10 de túbulos distales por rata, para un total de 100 núcleos de túbulos proximales y 100 núcleos de túbulos distales por grupo.

Se calculó el área de sección transversal tubular mediante la fórmula ($A = \delta R^2$),¹⁴ en la cual R es el radio. Para obtener este valor se realizaron mediciones de los diámetros (D) menores de los túbulos, tomando como punto de referencia las láminas basales PAS⁺ de los túbulos. De esta forma $R = D/2$.

Se midieron las áreas de 10 túbulos proximales y 10 túbulos distales por cada rata, para un total de 100 túbulos proximales y 100 distales por grupo.

Para el cálculo estadístico se aplicó ANOVA de dos vías con interacción, tomando las variables volumen nuclear y áreas transversales de los túbulos proximales y distales como variables dependientes y el tiempo y el grupo como variables independientes (como efectos principales) y su interacción. Los resultados fueron expresados en tablas.

RESULTADOS

Al analizar el volumen nuclear en las células de los túbulos contorneados proximales se observó que las ratas experimentales tanto de tres como de cinco meses tuvieron volúmenes nucleares menores que las controles, esta diferencia fue estadísticamente significativa ([tabla 1](#)).

Tabla 1. Volumen nuclear de células de túbulos contorneados proximales en micrómetros

Grupo/tiempo	Control	Experimental
3 meses	N= 100 X= 60,517 S= 14,312	N= 100 X= 54,697 S= 12,760
5 meses	N= 100 X= 61,098 S= 14,829	N= 100 X= 48,617 S= 15,

N = Número de ratas

X = Media

S = Desviación estándar

Efectos	F	P
Grupo	40,961	0,000
Tiempo	3,698	0,055
Grupo/tiempo	5,428	0,020

Al analizar la variación del volumen nuclear en el tiempo se observó que la diferencia de medias entre las ratas experimentales de tres y cinco meses está muy cerca del nivel de significación. Hubo interacción grupo-tiempo.

Las ratas experimentales de tres y cinco meses mostraron valores de volúmenes nucleares menores que las encontradas en las controles, en las células de los túbulos contorneados distales. Esta diferencia fue muy significativa. Aunque hubo diferencias de medias entre las ratas de tres y cinco meses, el tiempo no ejerció ningún efecto relevante. Hubo interacción grupo-tiempo ([tabla 2](#)).

Tabla 2. Volumen nuclear de células de túbulos contorneados distales en micrómetros

Grupo/tiempo	Control	Experimental
3 meses	N= 100 X= 52,345 S= 9,987	N=100 X= 45,062 S= 8,630
5 meses	N= 100 X= 55,587 S= 17,024	N= 100 X= 40,861 S= 11,480

N = Número de ratas X = Media S = Desviación estándar

Efectos	F	P
Grupo	81,303	0,000
Tiempo	0,155	0,694
Grupo/tiempo	9,296	0,002

El grupo experimental mostró valores de sección de áreas transversales de túbulos contorneados proximales significativamente mayores que los controles. Las ratas experimentales de 5 meses tuvieron áreas mayores que las de 3. No hubo interacción grupo-tiempo ([tabla 3](#)).

Tabla 3. Áreas de túbulos contorneados proximales en micrómetros

Grupo/tiempo	Control	Experimental
3 meses	N= 100 X= 610,330 S= 147,642	N= 100 X= 769,039 S= 198,381
5 meses	N= 100 X= 675,138 S= 124,854	N= 100 X= 784,513 S= 189,906

N = Número de ratas X = Media S = Desviación estándar

Efectos	F	P
Grupo	60,714	0,000
Tiempo	5,445	0,020
Grupo/tiempo	2,056	0,152

En las ratas experimentales se obtuvieron valores de áreas de túbulos contorneados distales significativamente mayores que en las controles. Las ratas de cinco meses mostraron áreas mayores que las de tres. Hubo interacción grupo-tiempo ([tabla 4](#)).

Tabla 4. Áreas de túbulos contorneados distales en micrómetros

Grupo/tiempo	Control	Experimental
3 meses	N= 100 X= 580,196 S= 144,916	N= 100 X= 655,869 S= 174,864
5 meses	N= 100 X= 571,378 S= 189,356	N= 100 X= 826,210 S= 192,183

N = Número de ratas X = Media S = Desviación estándar

Efectos	F	P
Grupo	87,831	0,000
Tiempo	20,978	0,000
Grupo/tiempo	25,809	0,000

DISCUSIÓN

En el presente trabajo se comprobó que los volúmenes nucleares de los túbulos proximales y distales del riñón de las ratas alcohólicas fueron significativamente menores que los de las ratas controles, tanto a los tres como a los cinco meses, y esta diferencia se hizo más marcada a medida que transcurrió el tiempo de tratamiento. Tanto las variaciones del volumen como del área nuclear se han considerado como indicadores sensibles de la actividad funcional de la célula, y ha sido utilizado por varios investigadores como predictor del estado funcional en varios tipos celulares.¹³⁻¹⁵

En un estudio realizado en personas alcohólicas que han ingerido el tóxico durante un largo período de tiempo, los autores plantean que el tiempo total de ingestión es una importante variable que refleja el efecto total acumulativo por exposición,¹⁶ por tanto, se asume la probabilidad que se produzcan alteraciones en la función de los tejidos, órganos y sistemas de órganos por efecto acumulativo e incremento de la dosis de alcohol en el tiempo.

Las ratas de la presente serie iniciaron la ingestión de etanol a los 28 días de nacidas, edad en la cual se ha planteado que comienzan los cambios propios de la adolescencia en este roedor,¹⁷ y se ha planteado que el alcoholismo iniciado en etapas tempranas de la vida puede provocar daños severos en el organismo.^{5,7,8,15} Esto demuestra que los adolescentes son muy sensibles al etanol.

En el presente trabajo se administró etanol a una dosis de cinco gramos y el tóxico fue suministrado mediante cánula intraesofágica. Esto garantizó que se alcanzaran niveles elevados de etanol en sangre no sólo por la dosis sino también por el método empleado.¹⁸

Considerando que las ratas tratadas de 5 meses mostraron mayores alteraciones en la estructura renal se puede inferir que la cantidad de alcohol ingerido, el tiempo de exposición al tóxico y otros factores como son el comienzo de la ingestión en edades tempranas en la vida de estas ratas, son responsables de la severidad del daño encontrado.

Estudios clínicos recientes han tratado de explicar la relación entre las anormalidades de los túbulos renales y el alcoholismo basados en una serie de defectos funcionales en diferentes segmentos tubulares que conducen a trastornos de los electrolitos séricos y del equilibrio ácido-básico en pacientes alcohólicos.^{11,19} El hecho que el alcoholismo esté relacionado con múltiples alteraciones funcionales tubulorreñales y que involucre diferentes segmentos tubulares, sugiere que la exposición al etanol puede originar disfunción tubular generalizada.

El estudio cariovolumétrico realizado en las células de los túbulos proximales y distales de las ratas, reveló que el volumen nuclear fue significativamente menor en las ratas experimentales, y esta diferencia entre los grupos resultó más marcada a los cinco meses. Estos resultados son similares a los reportados por otros autores, quienes han corroborado reducción de la talla de los núcleos de células piramidales del cerebro en ratas hijas de madres que ingirieron etanol durante la gestación.⁹

Como resultado de la presente investigación y los datos reportados, se puede plantear que la exposición crónica al etanol origina modificaciones en los núcleos de las células de los túbulos renales proximales y distales.

Teniendo en cuenta que las ratas alcohólicas crónicas de la presente serie mostraron alteraciones morfométricas de los túbulos renales, lleva a pensar que dichas modificaciones estructurales en el riñón son ocasionadas por la exposición crónica al tóxico.

Se concluye que en la muestra estudiada el alcoholismo crónico, iniciado en la adolescencia, provocó alteraciones del volumen nuclear y en las áreas de sección transversal de los túbulos renales proximales y distales de los riñones de las ratas, efecto que es tiempo dependiente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. García Gutiérrez E, Lima Mompó G, Aldana Vilas L, Casanova Carrillo, Feliciano Álvarez V. Alcoholismo y sociedad, tendencias actuales. Rev Cubana Med Milit. [en línea]. 2004; [Fecha de acceso: 17 de marzo de 2009]; vol. 3. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol33_3_04/mil07304.htm
2. Babor TF, Caetano R. Políticas contra el alcoholismo en las Américas basadas en datos probatorios: aspectos positivos, debilidades y retos futuros. Rev Panam Salud Publica. oct. /nov. 2005; 18(4-5):327-37. ISSN 1020-4989.
3. González Menéndez R. Significación médico social y ético-humanística de las drogas. Rev Cubana Salud Pública. v.33 n.1 La Habana jan./mar. 2007 ISSN 0864-3466 versión impresa.
4. Robledo de Dios T. Alcohol: tercer factor de riesgo en países desarrollados. Aten Primaria. 2006;38:313-15.
5. Ryan S. Trim, Laurie Chassin. Neighborhood Socioeconomic Status Effects on Adolescent Alcohol Outcomes Using Growth Models: Exploring the Role of Parental Alcoholism. J Stud Alcohol Drugs. 2008 September; 69(5): 639-48.
6. Oliveira DP, Areco KN, Silveira Filho D. Alcohol y alcoholismo entre adolescentes de la red estatal de enseñanza de Cuiabá, Mato Grosso. Revista de Saúde Pública. 2005;39(4):585-92.
7. Paniagua Repetto H, García Calatayud S, Castellano Barca G. Sarrallé Serrano R. Redondo Figuero C. Consumo de tabaco, alcohol y drogas no legales entre adolescentes y relación con los hábitos de vida y el entorno. Anales de Pediatría. 2001;55(02):121-28.
8. Herrera Batista A, Puldón Seguí G, Díaz Rondón B, Bacallao Gallestey J. Efectos del alcoholismo crónico sobre la presión arterial y frecuencia cardiaca en ratas adolescentes machos. Rev Cubana Invest Biomed. [online]. 2006, vol. 25, no. 1 [citado 2009-03-19]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0864-03002006000100004&script=sci_arttext ISSN 0864-0300.
9. Cecchiu E, De Marchi S. Alcohol misuse and renal damage. Addiction Biology. 1996;1:7-17.
10. Sánchez Hernández E, Fernández Seara J. Hepatopatía alcohólica. Rev Esp Enferm [serie en Internet]. 2005 [citado 2 Jul 2008]; 7(7). Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1130-01082005000700009&lng=es&nrm=iso
11. Mathurin S, Jaimet C, Turletti C, Arosio A, González G, Kuzmicz G. Insuficiencia renal en pacientes con cirrosis y ascitis: incidencia, etiología y factores predictivos. Acta Gastroenterol Latinoam. 2008; 38(2):116-25.
12. Mac Manus JFA. Histological and histochemical uses of periodic acid Schiff. Stein Technol. 1948;23:97-9.
13. Palkovits M. Quantitative histologische methoden in verbindung mit den schid und vergluchende bewertung. Endocrinologie. 1973;45:227-47.

14. Gómez A, Dovale A. El alcoholismo crónico en la morfología de estructuras testiculares en la rata. Rev CENIC. 2000;3(3):1-9.
15. Herrera Batista A, Rojas Rodríguez LY, Bacallao Gallestey J, Lebreo Alvarez I. Efectos protectores del ácido fólico sobre los hepatocitos de conejos machos adolescentes alcohólicos. Rev Cubana Invest Bioméd [on line]. 2007, vol. 26, no. 2 [citado 2009-04-14]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002007000200007&lng=es&nrm=iso&tlng=es
16. York JL, Hirsch JA. Residual pressor effects of chronic alcohol in detoxified alcoholics. Hypertension. 1996;28:133-38.
17. Odell WD. Sexual maturation in the rat. En: Grumbach MM, Sizonenko PC, Aubert ML. Control of the onset of puberty. Baltimore: Williams and Wilkins; 1990. p.183-210.
18. Jerrells Thomas R, Pruett Sphen B. Immunotoxic effects of etanol. Edited by Dean JH, Luster MI, Munson AE, and Kimber I. Immunotoxicology and immunopharmacology. 2nd ed. Ltd New York: Raven Press; 1994. p. 323-46.
19. Cecchiu E, De Marchi S. Alcohol misuse and renal damage. Addiction Biology. 1996;1:7-17.

Recibido:11 de enero de 2010

Aprobado: 14 de abril de 2010

Dra. *Aleida Herrera Batista*. Instituto Superior de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas "Victoria de Girón". Calle 194 No. 1511 entre 15 y 19, Siboney, municipio Playa. La Habana, Cuba. Teléfono 271 6492. Correo electrónico: aleidajosefa@infomed.sld.cu