

ORIGINALES

Papel de los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina en la prevención de las alteraciones renales asociadas al envejecimiento

C. Pérez-Caballero, M. P. Ruiz Torres, M. Masseroli*, F. O'Valle*, R. García del Moral*, M. Rodríguez Puyol y D. Rodríguez Puyol**

*Departamento de Anatomía Patológica, Universidad de Granada. **Departamento de Fisiología-Farmacología, y Departamento de Medicina. **Sección de Nefrología, Hospital Universitario Príncipe de Asturias, Alcalá de Henares.

RESUMEN

El envejecimiento renal se caracteriza, entre otras alteraciones, por una esclerosis glomerular progresiva con un descenso paulatino de la filtración glomerular, lo que puede agravarse por la alta prevalencia de hipertensión arterial en las poblaciones de edad avanzada. El captopril es un hipotensor eficaz, que podría prevenir el desarrollo de ciertas formas de glomerulosclerosis y de la fibrosis intersticial. El presente trabajo trata de evaluar la capacidad de este fármaco para enlentecer el desarrollo de la esclerosis glomerular asociada al envejecimiento, intentando profundizar en la importancia relativa de sus dos propiedades fundamentales, inhibición de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) y efecto antioxidante, en la génesis de los posibles efectos beneficiosos observados. Para ello, ratas Wistar de 18 meses de edad recibieron, en el agua de bebida, captopril (100 mg/l), lisinopril (IECA no antioxidante, 28 mg/l), y vitamina E (antioxidante exógeno, 50 mg/l), utilizando como controles ratas de la misma edad no tratadas. A los 24 meses se estudió morfológicamente la corteza renal, con técnicas estándar y sistemas de cuantificación automatizada, realizando además diversas mediciones en glomérulos aislados (contenido total de proteína y ADN, síntesis de peróxido de hidrógeno y actividades catalasa y glutatión-peroxidasa). Los animales control de 24 meses mostraron importantes alteraciones estructurales, en forma de arteriolosclerosis, esclerosis e hipertrofia glomerular, atrofia flocular, cilindros intratubulares y fibrosis intersticial. El captopril previno significativamente el desarrollo de arteriolosclerosis y de fibrosis intersticial. El lisinopril también previno la arteriolosclerosis, pero no modificó el grado de fibrosis intersticial. Los tres fármacos utilizados redujeron significativamente el contenido en ADN glomerular, pero sólo el captopril y la vitamina E disminuyeron la síntesis glomerular de peróxido de hidrógeno. Estos resultados sugieren que las propiedades antioxidantes del captopril le confieren propiedades terapéuticas no compartidas por otros IECA.

Palabras clave: **Envejecimiento. Captopril. Lisinopril. Vitamina E**

Correspondencia: Dr. D. Rodríguez Puyol
Sección de Nefrología
Hospital Universitario Príncipe de Asturias
Ctra. Alcalá-Meco, s/n.
Alcalá de Henares
28806 Madrid

Recibido: 25-IX-95.
En versión definitiva: 6-V-96.
Aceptado: 6-V-96.

ACE INHIBITORS IN THE PREVENTION OF RENAL LESIONS ASSOCIATED TO THE AGEING PROCESS

SUMMARY

The ageing process, at the kidney level, is characterized by the development of a progressive glomerular sclerosis with a stepwise reduction in the glomerular filtration rate. The high prevalence of hypertension in old people may enhance the progression of these changes. Captopril has been proven an useful drug in the treatment of hypertension, and even it has been proposed that it may prevent the progression of glomerular sclerosis in some kidney diseases. The present study was designed to test the hypothesis that captopril may prevent the progression of ageing-related glomerulosclerosis. We tried to assess the relative importance of two pharmacological properties of captopril, its ability to block angiotensin converting enzyme (ACE) activity and its antioxidant effect, in the genesis of the possible beneficial actions of the drug. For that purpose, 18 month old rats were administered, in the drinking water, captopril (100 mg/l), lisinopril (nonantioxidant ACE inhibitor, 28 mg/l), and tocopherol (exogenous antioxidant, 50 mg/l). Untreated animals were used as controls. Rats were sacrificed when they were 24 month old, and morphological studies of renal cortex were performed, including standard and automatic digital analysis-based techniques. Isolated glomeruli were obtained and their content of protein and DNA was measured. The synthesis of hydrogen peroxide and catalase and the glutation peroxidase activities were also measured. Control rats showed significant morphological changes in renal cortex, including arteriolosclerosis, glomerular sclerosis and hypertrophy, collapse of the capillary glomerular tuft, intratubular casts and interstitial fibrosis. Captopril and tocopherol significantly prevented the development of arteriolosclerosis and increased the number of animals with glomerular hypertrophy. Lisinopril also prevented the development arteriolosclerosis, but it did not change the degree of glomerular hypertrophy and even increased the total mesangial area. Every drug selected induced a significant reduction in the DNA glomerular content, but only captopril and tocopherol inhibited the glomerular synthesis of hydrogen peroxide. These results suggest that the antioxidant properties of captopril may provide additional pharmacologic effects to the drug, together with its well-known properties as an ACE inhibitor.

Key words: **Ageing. Captopril. Lisinopril. Vitamin E**

INTRODUCCION

Con el envejecimiento paulatino de la población occidental, la prevalencia de hipertensión arterial está aumentando progresivamente, constituyendo un problema sanitario de primerísima magnitud, sobre todo si se tiene en cuenta que cada día está más claro que el adecuado control tensional disminuye significativamente la morbimortalidad de estas poblaciones cuya longevidad va en aumento¹. Como en cualquier otro grupo de edad, el hipotensor ideal en los ancianos debe ser capaz de prevenir las alteraciones estructurales y funcionales orgánicas asociadas al proceso hipertensivo, y es en este campo donde las investigaciones actuales sobre hipertensión se están desarrollando ampliamente².

Por otra parte, e independientemente de la hipertensión, los distintos órganos de la economía sufren, con el transcurso del tiempo, una involución progresiva, probablemente programada genéticamente, que condiciona una reducción lenta y mantenida de las funciones vitales³. En el caso concreto del riñón, esta involución se caracteriza por un acúmulo progresivo de proteínas estructurales de localización anormal junto con una reducción de la celularidad global, lo que a nivel de los glomérulos e intersticio se traduce estructuralmente por la aparición de una esclerosis progresiva, asociada a una disminución de la filtración glomerular⁴⁻⁶.

Los mecanismos responsables de las alteraciones estructurales glomerulares e intersticiales en el contexto del envejecimiento no se conocen con preci-

sión en el momento actual, y casi toda la información existente a este respecto proviene de estudios realizados en otras situaciones patológicas caracterizadas también por la aparición de glomerulosclerosis y fibrosis intersticial. En cualquier caso, existen datos que apoyan la importancia de ciertos factores de crecimiento en la regulación del depósito de matriz extracelular⁷. Dentro de estos mediadores biológicos, y en el caso concreto del envejecimiento, resultados recientes de nuestro grupo sugieren la importancia de los metabolitos activos derivados del oxígeno (MADO)⁸.

El captopril (CAPT), un inhibidor de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) con ciertas propiedades antioxidantes por poseer un grupo sulfhidrilo⁹, controla eficazmente la hipertensión en pacientes con distintas edades¹⁰, habiéndose propuesto que, a su vez, es capaz de prevenir el deterioro progresivo de la función renal en determinados contextos patológicos^{11, 12}. El presente trabajo trata de analizar la capacidad del captopril para prevenir las alteraciones renales asociadas al envejecimiento en un modelo experimental de ratas viejas normotensas, profundizando en la importancia relativa, a la hora de considerar los posibles efectos beneficiosos del fármaco, de sus actividades IECA y antioxidante. Para ello, se compara la acción del captopril (CAPT) con la de un IECA no antioxidante, el lisinopril (LIS)⁹, y con la de una molécula antioxidante sin capacidad IECA, como es el tocoferol (vitamina E)¹³.

MATERIAL Y METODOS

1. Animales de experimentación y recogida de muestras

Se utilizaron ratas Wistar macho de 18 meses de edad con un peso de 600 ± 69 gramos. Los animales se mantuvieron en condiciones estándar de luz, temperatura y dieta, teniendo libre acceso al agua y a la comida, siendo repartidos en cuatro grupos experimentales: ratas control (no recibieron ningún tratamiento), ratas tratadas con CAPT (100 mg/l agua de bebida), ratas tratadas con LIS (28 mg/l agua de bebida) y ratas tratadas con vitamina E (50 mg/l agua de bebida).

Seis meses después de haber iniciado el tratamiento, se procedió a la obtención de muestras biológicas. El número final de animales obtenidos en cada grupo fue el siguiente: 16 control (C), 16 CAPT, 13 LIS y 15 vitamina E.

Tras anestesiarse a los animales con éter, se procedió a la apertura de la línea media abdominal, colocando un catéter en la bifurcación aórtica. Tras exanguinar

a las ratas, los riñones fueron perfundidos con solución salina al 0,9 % fría, extrayéndolos posteriormente. Un polo renal se colocó en formaldehído tamponado al 4 %, mientras que el resto del tejido renal se destinó a la obtención de glomérulos.

2. Métodos histopatológicos

El estudio histológico se realizó sobre secciones transversales de 4 micras de espesor del polo superior renal incluido en parafina. Las tinciones realizadas fueron la hematoxilina-eosina de Harris, el tricrómico de Masson para tejido conjuntivo y el PAS. Sobre 20 campos microscópicos de 40x (10 CGA) de estas preparaciones se contabilizaron el porcentaje de glomérulos esclerosados, de glomérulos con algún grado de atrofia flocular y de túbulos renales que contenían cilindros hialinos, así como la existencia de arterioloesclerosis hialina e hipertrofia compensadora glomerular. Estos 2 últimos parámetros se valoraron de forma semicuantitativa, considerándose presentes cuando las lesiones se detectaron en más de un 25 % de las estructuras vasculares o glomerulares analizadas. Todos estos estudios fueron realizados en paralelo por dos patólogos que desconocían la procedencia de las muestras.

La fibrosis intersticial cortical y la expansión mesangial se cuantificaron automáticamente sobre preparaciones teñidas con la técnica de rojo sirio para tejido conectivo. En cada una de las secciones histológicas renales se evaluaron 20 campos intersticiales representativos escogidos al azar y 20 glomérulos seleccionados de igual manera. Con nuestras condiciones de captación de imágenes (objetivo 20x, lente intermedia 3,3x) la superficie total de cada campo fue de $44221,3 \text{ mm}^2$. Para evitar el sesgo que supone la presencia de ovillos glomerulares de distinto tamaño, los valores correspondientes al área mesangial en cada imagen fueron corregidos aplicando la siguiente ecuación: índice de expansión mesangial (IEM) = área morfológica mesangial/superficie total glomerular. Con respecto a la fibrosis intersticial, los valores se expresan como área de fibrosis corregida por área total analizada, expresado en %. La lectura de resultados se realizó con un analizador de imágenes utilizando el programa Fibrosis HR (Master Diagnóstica, Granada) desarrollado en el entorno Visilog 4,1 (Noesis, Francia)¹⁴.

3. Aislamiento de glomérulos

Los riñones extraídos se decapsularon, separándose corteza y médula mediante disección macroscópi-

ca, sometiéndose la primera a un tamizado diferencial (105 y 75 μm de diámetro de poro) con el fin de aislar los glomérulos de otras estructuras renales¹⁵. Se procedió al recuento glomerular y se recogieron muestras para la determinación de proteína glomerular según el método de Lowry¹⁶ y para la determinación del DNA celular según el método de Burton¹⁷.

4. Determinaciones a nivel glomerular

La producción de peróxido de hidrógeno se determinó según el método del rojo fenol¹⁸. Para ello alícuotas de 200 μl de suspensión glomerular se incubaron con peroxidasa de rábano tipo II (12 U/ml concentración final) y con rojo fenol (0,28 mM concentración final) en solución salina tamponada con fosfato ($\text{K}_2\text{PO}_4\text{H}$ 10 mM, NaCl 140 mM, glucosa 5,5 mM, pH 7,4) durante 30 minutos a 37°C. Tras parar la reacción en frío se añadieron 20 ml de NaOH 3M y se monitorizó la absorbancia de la muestra a 610 nm. Como estándar se utilizaron concentraciones de H_2O_2 entre 0,5 y 25 mM, calculados en las mismas condiciones experimentales.

La determinación de catalasa se realizó según el método de Aebi¹⁹. Los glomérulos obtenidos mediante tamizado diferencial fueron centrifugados durante cuatro minutos a 1.000 rpm. Se aspiró el sobrenadante y tras añadir al pellet 1 ml de tritón al 0,01 % se homogenizó y se sumergió en un baño de ultrasonidos durante 10 minutos con el fin de romper las estructuras glomerulares. Se centrifugó la muestra durante 10 minutos a 11.000 rpm, recogiendo 2 ml del sobrenadante a los que se añadió 1 ml de peróxido de hidrógeno 30 mM, monitorizándose el descenso de la absorción de la muestra a 240 nm durante 30 segundos, anotando el valor de dicho descenso cada cinco segundos. La actividad catalasa se cuantificó considerando como unidad la constante de una reacción de primer grado (K) calculada según la ecuación: $K = \text{Ln}(A_1/A_2)/(t_2-t_1)$ siendo A_1 y A_2 las alteraciones iniciales y finales y t_2-t_1 el intervalo de tiempo considerado.

La determinación de glutatión peroxidasa se realizó según el método de Flohe y Güntzler²⁰. La suspensión glomerular fue procesada tal como se ha descrito para la catalasa. Cada 100 μl de muestra fueron incubados con 500 μl de $\text{K}_2\text{PO}_4\text{H}$ 0,1 M, 100 μl de glutatión reducido 10 mM y 100 μl de glutatión reductasa durante cinco minutos a 37°C. Posteriormente se añadieron 100 μl de NADPH (1,5 mM) y 100 μl de t-butilhidroxiperoxido 12 mM, monitorizándose a intervalos de 1 minuto el descenso de la absorción de la muestra a 340 nm durante cinco minutos. La actividad se calculó utilizando el coeficiente de extinción del NADPH a 340 nm, 6,22 $\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$.

5. Método estadístico

Todas las determinaciones se expresan como $\bar{x} \pm \text{eem}$ excepto en aquellos casos en que se hace referencia a un porcentaje de animales. Las comparaciones estadísticas de todas aquellas distribuciones de valores cuantitativos se realizaron mediante análisis de varianza seguido de prueba de comparación múltiple de media de Newman-Keuls, una vez comprobada la normalidad de dichas distribuciones. Cuando los valores fueron cualitativos se compararon mediante la prueba de chi-cuadrado. Una $p < 0,05$ fue considerada estadísticamente significativa.

RESULTADOS

En la [tabla I](#) se exponen los resultados más importantes obtenidos en los estudios histopatológicos. Las ratas viejas no tratadas presentaron importantes alteraciones morfológicas: junto a un porcentaje muy elevado de arteriolosclerosis, la afectación glomerular fue muy significativa, con esclerosis global moderada y atrofia flocular muy marcada. Estos animales presentaron igualmente alteraciones tubulointersticiales evidentes, con cilindros intratubulares y fibrosis intersticial severa. Las [figuras 1 y 2](#) muestran el aspecto microscópico característico de los riñones de los animales viejos. Todos los fármacos seleccionados previnieron de forma significativa y similar la aparición de arteriolosclerosis, mientras que sólo el CAPT modificó de forma significativa el curso de la fibrosis intersticial. Cuando se consideran los cambios glomerulares, incluyendo el IEM, la respuesta histológica ante cada tipo de fármaco fue similar, no observándose variación significativa con respecto al grupo control. La [figura 3](#) muestra el aspecto caracte-



Fig. 1.—Ratas Wistar de 24 meses no tratadas. A) Visión panorámica de la corteza renal en la que se aprecia dilatación quística glomerular y dilatación tubular con presencia de cilindros hialinos (HE x100). B) Glomérulos con dilatación quística y fibrosis periglomerular (trícromico de Masson x200).

Tabla I. Resultados más importantes de los estudios histopatológicos realizados en los distintos grupos de animales

| Lesiones | Control | Captopril | Lisinopril | Vitamina E |
|---|------------|-------------|-------------|-------------|
| Ratas con arteriolosclerosis (%)..... | 75,0 | 31,3* | 23,1* | 40,0* |
| Glomérulos esclerosados (%)..... | 7,1 ± 2,3 | 6,3 ± 4,9 | 5,2 ± 1,9 | 4,8 ± 2,4 |
| Glomérulos con atrofia flocular (%)..... | 47,6 ± 4,8 | 33,6 ± 4,0 | 33,5 ± 4,7 | 35,6 ± 3,1 |
| Ratas con hipertrofia glomerular (%)..... | 43,8 | 37,5 | 30,8 | 53,3 |
| IEM..... | 0,3 ± 0,04 | 0,31 ± 0,02 | 0,35 ± 0,03 | 0,39 ± 0,07 |
| Número de túbulos con cilindros..... | 19,1 ± 2,3 | 17,4 ± 3,8 | 20,2 ± 1,9 | 24,1 ± 4,0 |
| Fibrosis intersticial (%)..... | 29,3 ± 2,3 | 21,4 ± 1,3* | 31,6 ± 2,3 | 36,1 ± 7,4 |

Los resultados se expresan como $x \pm eem$ excepto en aquellos casos en los que se hace referencia a un tanto por ciento de animales (arteriosclerosis e hipertrofia glomerular). IEM: índice de expansión mesangial (véase método).

* $p < 0,05$.

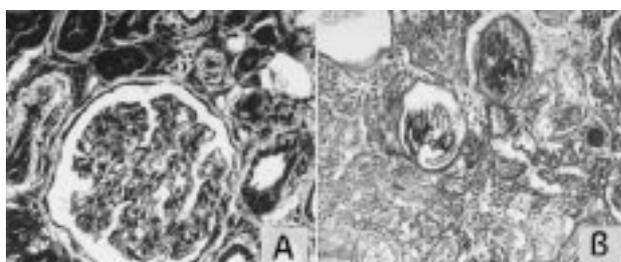


Fig. 2.—Ratas Wistar de 24 meses no tratadas. A) Arteriolosclerosis (flecha) (tricromico de Masson x200). B) Atrofia tubular con engrosamiento de membranas basales (PAS x200).

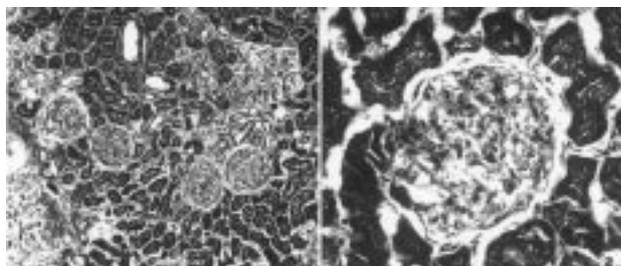


Fig. 3.—Ratas Wistar de 24 meses tratadas. A) Corteza renal a pequeño aumento de ratas Wistar de 24 meses tratadas durante 6 meses con captopril (CAPT). Nótese la menor alteración quística glomerular y tubular (tricromico de Masson x100). B) Glomérulo con incremento de la matriz mesangial (tricromico de Masson x400).

rístico de la corteza renal del grupo de animales tratados con CAPT.

En la figura 4 se muestra el contenido glomerular en proteínas y ADN en los cuatro grupos experimentales. No se observaron diferencias significativas en el contenido proteico glomerular, pero tanto los IECAS como la vitamina E indujeron una reducción significativa de la cantidad de ADN glomerular.

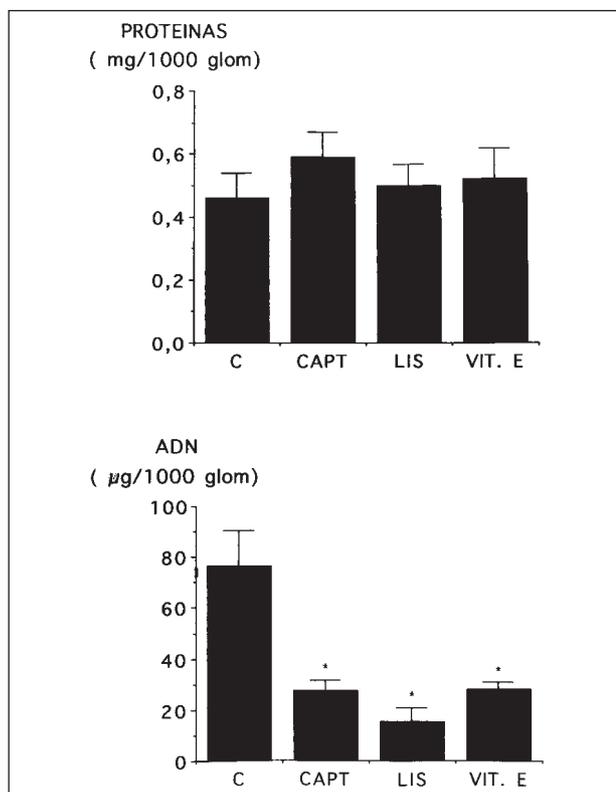


Fig. 4.—Contenido glomerular de proteínas (panel superior) y ácido deoxirribonucleico (ADN) (panel inferior) en ratas Wistar de 24 meses de edad, tratadas durante 6 meses con captopril (CAPT), lisinopril (LIS) o vitamina E (VIT. E), en comparación con ratas de la misma edad pero sin ningún tratamiento (C). * $p < 0,05$ vs C.

Los tratamientos con CAPT y con vitamina E disminuyeron la síntesis glomerular de peróxido de hidrógeno, un efecto que no se observó en los animales tratados con LIS (fig. 5). Cuando se analizó la actividad de algunas enzimas antioxidantes, no se obser-

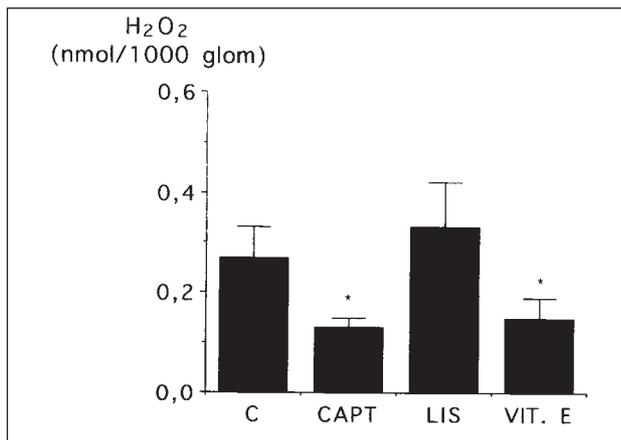


Fig. 5.—Síntesis glomerular de peróxido de hidrógeno (H₂O₂) en ratas Wistar de 24 meses de edad, tratadas durante 6 meses con captopril (CAPT), lisinopril (LIS) o vitamina E (VIT. E), en comparación con ratas de la misma edad, pero sin ningún tratamiento (C). *p < 0,05 vs C y LIS.

varon diferencias significativas entre los animales control y los que recibían IECA con respecto a las actividades catalasa y glutatión peroxidasa, mientras que la administración de vitamina E, aunque sin modificar la segunda de estas enzimas, sí determinó un incremento de la catalasa glomerular (fig. 6).

DISCUSION

El primer aspecto relevante de los presentes resultados radica en la demostración de las importantes alteraciones morfoestructurales renales en ratas Wistar de 24 meses de edad. Se trata de animales mantenidos en condiciones muy estables en el animalario de la Universidad de Alcalá de Henares, en un medio libre de patógenos, por lo que puede considerarse que los cambios morfológicos observados son la consecuencia, en su mayor parte, del propio proceso de envejecimiento, pudiendo descartar razonablemente una contribución histopatológica significativa de factores exógenos, como, por ejemplo, infecciones repetidas, en la génesis de los cambios observados. Tradicionalmente, la rata Wistar no es uno de los modelos más empleados para analizar el problema del envejecimiento, porque el desarrollo de las lesiones renales tiene lugar de forma más tardía que en otras cepas de rata como la Fischer 344, donde pueden observarse datos estructurales sugerentes de envejecimiento glomerular entre los 15 y 18 meses²¹. Sin embargo, nuestros estudios demuestran que las ratas Wistar viejas también muestran lesiones glomerulares y túbulo-intersticiales evidentes, constituyendo un modelo útil para el estudio del en-

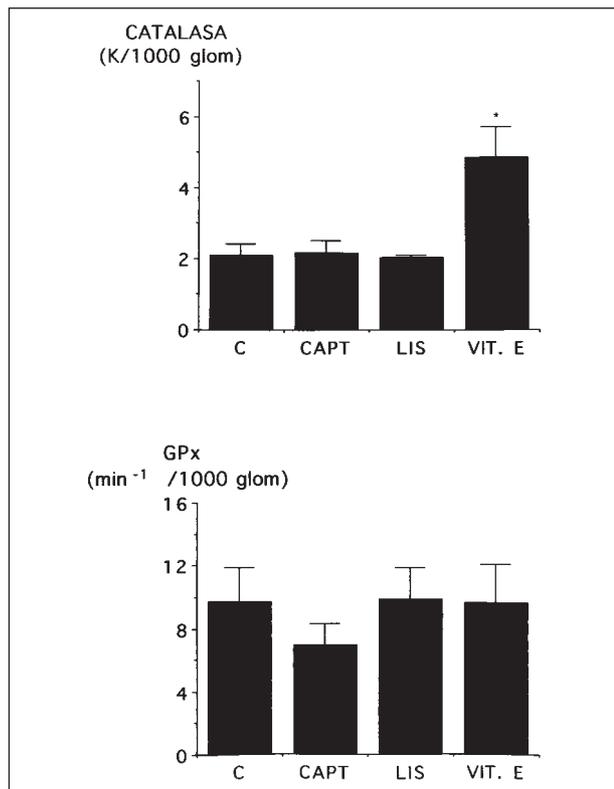


Fig. 6.—Actividades catalasa (panel superior) y glutatión peroxidasa (panel inferior) glomerulares en ratas Wistar de 24 meses de edad, tratadas durante 6 meses con captopril (CAPT), lisinopril (LIS) o vitamina E (VIT. E), en comparación con ratas de la misma edad pero sin ningún tratamiento (C). *p < 0,05 vs C, CAPT y LIS.

vejecimiento renal. Esta afirmación cobra aún más importancia si se tiene en cuenta que, desde un punto de vista funcional, el comportamiento de estos animales es superponible a la especie humana, con cambios en la función glomerular comparables a los descritos en las personas de edad avanzada⁸.

Considerando en profundidad los cambios morfológicos observados, es de destacar que la mayor parte de las lesiones encontradas son las descritas en estudios en seres humanos. Sorprende, no obstante, el enorme porcentaje de glomérulos con atrofia flocular. Como se ha mostrado en la figura 1, son glomérulos quistificados a expensas de una expansión masiva del espacio urinífero delimitado por la cápsula de Bowman. Desde un punto de vista conceptual, esto podría ser debido a: 1) una isquemia mantenida aunque los glomérulos isquémicos tienen mayor expansión mesangial²² o 2) un aumento muy importante de la presión intratubular, secundaria a fenómenos de obstrucción progresiva, con el subsiguiente colapso capilar. La citada obstrucción tubular podría ser debida a una esclerosis intersticial creciente²³ aso-

ciada a la presencia de cilindros intratubulares, también muy frecuentes en los animales de nuestro estudio. Cuando, considerando todos los animales estudiados, tratados o no, se intentó establecer una relación matemática entre atrofia flocular y presencia de cilindros tubulares, la correlación fue estadísticamente significativa. De igual modo, la fibrosis intersticial es muy evidente en los animales envejecidos (29,36 %), un hecho que contrasta con el volumen intersticial establecido clásicamente para las ratas jóvenes que se encuentra en torno al 16 %.

Clásicamente se ha relacionado la lesión intersticial con la obliteración de los capilares postglomerulares²⁴. Aunque no se conoce con exactitud el origen de esta alteración capilar, parece que la hipertensión arterial que suele asociarse a las glomerulopatías y a las nefritis intersticiales podría ser el mecanismo desencadenante de la oclusión postcapilar descrita, ya sea de forma directa por isquemia o, lo que es más probable, estimulando la secreción de determinados mediadores por parte de los túbulos renales. Dentro de estos mediadores, habría que destacar el factor de crecimiento de las plaquetas —PDGF—, que además de un mitógeno sobre fibroblastos es un potente vasoconstrictor²⁵, la endotelina²⁶ y la angiotensina II²⁷, que se ha demostrado tienen además un importante papel en la isquemia glomerulointersticial observada en el trasplante renal y la nefrotoxicidad crónica por ciclosporina A²⁸.

El CAPT indujo modificaciones relevantes en los animales tratados. Desde el punto de vista estrictamente bioquímico, condicionó una reducción en el contenido de ADN glomerular, sin modificar la cantidad de proteína por glomérulo, determinando igualmente una disminución de la síntesis de peróxido de hidrógeno. Este último efecto, asociado también al tratamiento con vitamina E, pero no con LIS, confirma las propiedades antioxidantes del fármaco, que no se basan, como demuestran los estudios enzimáticos, en una modificación de la actividad de los antioxidantes endógenos sino, probablemente, en la propia estructura de la molécula. Morfológicamente, el CAPT redujo significativamente el tanto por ciento de ratas con arteriosclerosis, un efecto previamente descrito²⁹, así como la intensidad de las lesiones intersticiales. En contra de lo esperado a nivel glomerular el CAPT no modificó significativamente las lesiones observadas en ratas viejas.

Una interpretación conjunta de estos hallazgos, a la hora de valorar la eficacia del CAPT, resulta compleja. La ausencia aparente de una mejoría en las estructuras glomerulares en las ratas tratadas con CAPT puede implicar la falta de un efecto beneficioso de la droga en los animales viejos. Sin embargo, existen otras posibilidades que no pueden ser excluidas. Así,

la disminución en el contenido de ADN glomerular sugiere una involución de las células residentes glomerulares, y es bien conocida la relación directa existente entre proliferación celular y desarrollo de glomerulosclerosis^{30, 31}. Por otra parte, los métodos empleados para la valoración de las proteínas glomerulares proporcionan sólo una visión global de estos fenómenos, sin discriminar con precisión cambios cualitativos relevantes en el desarrollo de la esclerosis glomerular. En cualquier caso, e independientemente de las acciones glomerulares, los efectos beneficiosos más relevantes del CAPT tienen lugar a nivel de estructuras extraglomerulares, a saber, los vasos y el intersticio renal. La disminución de la fibrosis intersticial inducida por el CAPT cobra aquí gran importancia, sobre todo si se tiene en cuenta que los conceptos actuales sobre la progresión de la insuficiencia renal apuntan al daño intersticial como uno de los mecanismos fundamentales implicados en esta progresión.

Uno de los objetivos fundamentales de este estudio era valorar el mecanismo intrínseco de la acción del CAPT. Para ello, se comparó su efecto con el de un IECA sin actividad antioxidante, el LIS, así como con un antioxidante exógeno, la vitamina E. Se trataba, así, de dilucidar la contribución relativa, en el contexto de la posible protección renal, de los dos efectos descritos para el CAPT. La mayor parte de los resultados fueron comparables con las tres drogas, si bien, como cabía esperar, el LIS no modificó la producción glomerular de peróxido de hidrógeno. Las diferencias más importantes se observaron en los estudios morfológicos y a nivel intersticial, ya que el IECA no antioxidante y la vitamina E no indujeron una disminución significativa de la fibrosis a este nivel. El hecho de que el LIS fuera capaz de prevenir la arteriosclerosis de forma totalmente comparable al CAPT sin modificar la fibrosis intersticial, sugiere que la acción del CAPT a este nivel es independiente de la mejoría de la perfusión del intersticio. En conjunto, estos resultados apuntan la posibilidad de que, a la hora de prevenir la esclerosis renal global, el LIS resultaría menos efectivo que el CAPT, entre otras posibles razones por carecer de grupo -SH.

Una limitación importante de los presentes resultados podría ser la dosis de fármacos seleccionados, así como el tiempo de tratamiento. Aunque esta selección se ha basado, además de en referencias previas³², en el concepto de equipotencia con respecto a la capacidad antioxidante o de inhibición de la enzima de conversión^{9, 33}, podría ocurrir que fueran dosis muy elevadas o que, tras el largo período de administración, produjeran un efecto máximo. Se minimizarían así las posibles diferencias experimentales, con lo que la explicación de los resultados po-

dría resultar complicada. Hay, pues, que plantearse futuros abordajes experimentales que, bien *in vivo* bien *in vitro*, traten de profundizar en esta dosis y tiempo-dependencia.

En resumen, las ratas Wistar de 24 meses de edad presentan importantes alteraciones estructurales renales, que se modifican con el tratamiento con CAPT, de forma que el fármaco previene claramente las alteraciones vasculares observadas, induciendo cambios intersticiales que podrían sugerir la existencia de un efecto preventivo ante el desarrollo de esclerosis progresiva a este nivel. Aunque gran parte de los efectos del CAPT se deben a su capacidad de inhibir la enzima de conversión de la angiotensina, es posible que el efecto de prevención descrito se vea potenciado, además, con las propiedades antioxidantes del fármaco.

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido financiado por el proyecto coordinado: FISS 95/0027 y SAF93-0713.

Bibliografía

1. Dice JF: Cellular and molecular mechanisms of aging. *Physiol Rev* 73:1, 1993.
2. Anderson S, Meyer TW, Rennke HG y Brenner BM: Control of glomerular hypertension limits glomerular injury in rats with reduced renal mass. *J Clin Invest* 76:612-619, 1985.
3. Cutler RG: Longevity is determined by specific genes. En *Testing the Theories of Aging*. Adelman RC y Roth GS (eds.). Boca Raton, pp. 25-114, 1982.
4. Lindeman R: Overview: renal physiology and pathophysiology of aging. *Am J Kidney Dis* 16:275-282, 1990.
5. Goyal VK: Changes with age in the human kidney. *Exp Gerontol* 17:321-331, 1982.
6. Klahr S, Schreiner G e Ichikawa I: The progression of renal disease. *N Engl J Med* 318:1657-1666, 1988.
7. Abboud HE: Growth factors and the mesangium. *J Am Soc Nephrol* 2:5185-5189, 1992.
8. Ruiz Torres MP, González-Rubio M, Lucio Cazaña FJ, Ruiz Villalpesa A, Rodríguez-Puyol M y Rodríguez-Puyol D: Reactive oxygen species and platelet activating factor synthesis in age-related glomerulosclerosis. *J Lab Clin Med* 124:489-495, 1994.
9. Ohishi A, Suzuki H, Nakamoto H, Katsumate H, Sakaguchi H y Sarute T: Differences in the effects of angiotensin converting enzyme inhibitors with or without a thiol group in chronic renal failure in rats. *Clinical Sci* 76:353-356, 1989.
10. Lindeman RD, Tosin JD y Shock NW: Association between blood pressure and the rate of decline in renal function with age. *Kidney Int* 26:861-868, 1984.
11. Zoja C, Remuzzi A, Corna D, Perico N, Bertani T y Remuzzi G: Renal protective effects of angiotensin-converting enzyme inhibition in aging rats. *Am J Med* 92 (S4B):605-635, 1992.
12. Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG y Brenner BM: Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacological amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986.
13. Wang CH y Salakudeen AK: Lipid peroxidation accompanies cyclosporine nephrotoxicity. Effects of vitamin E. *Kidney Int* 47:927-934, 1995.
14. Masseroli M, O'Valle F, Montes A, Gómez M, Aguilar M, López J, Lucena M, Medina MT y García del Moral R: Automatic study of renal pathology by digital image analysis. *Kidney Int* 46:560-561, 1994.
15. Misra RP: Isolation of glomeruli from mammalian kidneys by graded sieving. *Am J Clin Pathol* 58:135-139, 1972.
16. Lowry OH, Rosebrough NG, Farr AL y Randal RJ: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 193:365-367, 1951.
17. Burton K: A study of the conditions and mechanism of the di-phenylamine reaction for the colorimetric estimation of deoxyribonucleic acid. *J Biochem* 62:315-323, 1956.
18. Baud L, Pérez Jy Ardaillou R: Dexametasona and hydrogen peroxide production by mesangial cells during phagocytosis. *Am J Physiol* 250:F596-F604, 1986.
19. Aebi HE: Enzymes 1: oxidoreductases, transferases. En *Methods of enzymatic analysis*, vol III. Ed Bergmeyer HU. Verlag-Chemis (Basel), pp. 273-285, 1990.
20. Flohe L y Gunzler W: Assays of glutathione peroxidase. En *Methods in Enzymology*, vol 105. Academic Press (London), pp. 114-121, 1984.
21. Iwasaki K, Gleiser CA, Masoro EJ, McMahan CA, Seo ES y Yu BP: The influence of dietary protein source on longevity and age related disease processes of Fischer rats. *J Gerontol* 43:5-12, 1988.
22. Wellin LW y Grantham JJ: Cystic diseases of the kidney. En *Renal Pathology with Clinical and Functional correlations*. JB Lippincott Co. Philadelphia, pp.312-354, 1994.
23. Potter EL y Osathanondh V: Medullary sponge kidney. *J Pediatr* 62:901-907, 1963.
24. Bohle A, Gise H, Mackensen-Haen S y Stark-Jakob B: The obliteration of the post-glomerular capillaries and its influence upon the function of both glomeruli and tubuli. *Klin Wochenschr* 59:1043-1051, 1981.
25. Knecht A, Fine LG, Kleinman KS, Rodemann HP, Muller GA, Woo DDL y Norman JT: Fibroblasts of rabbit kidney in culture: II. Paracrine stimulation of papillary fibroblasts by PDGF. *Am J Physiol* 261:F292-F299, 1991.
26. Ong ACM, Jewett TP, Firth JD, Burton S, Karet FE y Fine LG: An endothelin-1 mediated autocrine growth loop involved in human renal tubular regeneration. *Kidney Int* 48:390-401, 1995.
27. Harris RC y Martínez-Maldonado M: Angiotensin II-mediated renal injury. *Miner Electrol Metab* 21:328-335, 1995.
28. Kon V, Hunley TE y Fogo A: Combined antagonism of endothelin A/B receptors links endothelin to vasoconstriction whereas angiotensin II effects fibrosis. Studies in chronic nephrotoxicity in rats. *Transplantation* 60:89-95, 1995.
29. Fabris B, Chen B, Pupic V, Perich R y Jhusten C: Inhibition of Angiotensin-converting enzyme (ACE) in plasma and tissue. *J Cardiovasc Pharmacol* 15 (S2):S6-S13, 1990.
30. Pesce CM, Striker LJ, Peten EP, Elliot S y Striker GE: Glomerulosclerosis at both early and late stages is associated with increased cell turnover in mice transgenic for growth hormone. *Lab Invest* 65:601-605, 1991.
31. Striker LJ, Peter EP, Elliot S, Dol T y Striker GE: Biology of disease-mesangial cell turnover: Effects of heparin and peptide growth factors. *Lab Invest* 64:446-456, 1991.
32. Patel VB, Siddiq T, Richardson PJ, Marway JS, Paice A y Preedy VR: Compared effects of amlodipino and lisinopril on chronic hypertrophy regression. *Clin Sci* 86:36-37, 1994.
33. Cushman DW, Wang FL, Fung WC, Grover GJ, Harvey CM, Scales RJ, Mitch SL y DeForrest JM: Comparison in vitro, ex vivo, and in vivo of the actions of angiotensin converting enzyme (ACE). *Br J Clin Pharmacol* 28:1155-1315, 1989.