

# *Efectos cardiovasculares y renales del tratamiento crónico con verapamil y trandolapril en ratas nefrectomizadas 5/6*

O. Flores, F. Hidalgo, B. Gallego y J. M. López-Novoa

Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca.

## INTRODUCCION

La asociación entre hipertensión arterial sistémica y deterioro renal es un hecho bastante claro<sup>1</sup>; este deterioro renal se produce fundamentalmente a nivel glomerular, se denomina glomerulosclerosis (GSC) y se caracteriza por una sustitución total o parcial del ovillo capilar glomerular por material fibroso, de manera que se reduce o anula totalmente la filtración glomerular.

Generalmente se acepta que el tratamiento antihipertensivo protege al riñón de la lesión vascular provocada por el aumento sostenido de la presión arterial; sin embargo, recientes estudios demuestran que esta protección del riñón puede no ser suficiente y se ha descrito deterioro progresivo de la función renal durante el tratamiento antihipertensivo tradicional. Así, Anderson y cols.<sup>2</sup> encontraron ventajas en el uso de un IECA con respecto a la combinación de hidralazina, hidroclorotiazida y reserpina. Ambos tratamientos fueron eficaces a la hora de reducir la presión arterial sistémica; sin embargo, sólo el IECA previno la proteinuria y la GSC. Por este motivo se están estudiando los efectos renales de diferentes tratamientos hipotensivos de forma que se frene la progresión hacia insuficiencia renal crónica.

Existen muchos estudios sobre cuáles son los desencadenantes de la esclerosis glomerular en diferentes patologías como hipertensión arterial, diabetes, reducción del número de nefronas... No está aún de-

masiado bien definido, pero se cree que son hipertensión intraglomerular<sup>3,4</sup> e hipertrofia<sup>5,6</sup> los dos factores que actuarían de forma aislada o sinérgica, según los casos, en el desencadenamiento de la patología renal. Ambos factores van a provocar un aumento de tensión en la pared capilar glomerular que será el desencadenante final de la GSC, a través de una activación de la proliferación celular y de la producción de matriz mesangial<sup>7</sup>. Sería interesante conseguir que la terapia antihipertensiva evitara ambos fenómenos, es decir, tanto la hipertensión glomerular como la hipertrofia, y conseguir así frenar más eficazmente el deterioro renal. En este sentido, los que mayor interés han suscitado son los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina I y los antagonistas de calcio.

Los inhibidores de la enzima de conversión de angiotensina I (IECA) revierten los efectos renales mediados por Ang II y potencian los de las cininas, 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<sup>2,8</sup>.

En el caso de los antagonistas de calcio (ACa) no está bien definido su efecto hemodinámico renal, existiendo gran controversia acerca de si modifican la presión intraglomerular; es más probable que su efecto renoprotector se debe a otras acciones que tienen que ver con el descenso del calcio intracelular, como son la disminución de la hipertrofia glomerular, el tráfico mesangial de macromoléculas, descenso de la actividad metabólica y producción de radicales libres, modulación de factores de coagulación, etc.<sup>8</sup>.

El objetivo de este estudio es evaluar el efecto a

Correspondencia: J. M. López Novoa.  
Departamento de Fisiología y Farmacología.  
Edificio departamental.  
Avda. Campo Charro, s/n.  
37007 Salamanca.  
España.

largo plazo de la combinación de un ACa (verapamil) y un IECA (trandolapril) en la progresión de la enfermedad renal en el modelo experimental de 5/6 de RMR. Este modelo se caracteriza por altos niveles de presión arterial sistémica, hiperfiltración, hipertensión intraglomerular, hipertrofia, elevada proteinuria y una evolución progresiva y relativamente rápida hacia GSC<sup>9</sup>.

## METODOS

### Animales, dieta y condiciones ambientales

El estudio se lleva a cabo con ratas Wistar, hembras, de aproximadamente 250 g de peso, que se alimentaron con una dieta con un contenido proteico estándar y tuvieron libre acceso a comida y agua.

### Procedimiento quirúrgico

Se realiza una laparotomía media bajo anestesia con éter etílico, se ligan 2 ó 3 de las ramas de la arteria renal izquierda y se extrae el riñón contralateral de forma que únicamente quede aproximadamente 1/6 de la masa renal funcionante. La supervivencia a los tres días de la operación es de aproximadamente el 60 % de los animales.

### Tratamiento

Después de una semana de la reducción de la masa renal comienza el tratamiento de los animales, el cual se administra en el agua de bebida, el IECA (Trandolapril, Knoll, Ludwigshafen, Alemania) a la dosis de 0,7 mg/kg/día, el ACa (Verapamil, Knoll, Ludwigshafen, Alemania) a la dosis de 20 mg/Kg/día y la combinación de ambos a las mismas dosis que en los tratamientos de cada uno por separado.

La duración del tratamiento es de seis meses.

### Medidas

Desde el primer mes, y a lo largo de todo el tratamiento, se determina mensualmente la presión arterial en la cola del animal por un método no invasivo manteniendo al animal inmóvil, pero despierto, mediante un esfigmomanómetro digital por el que también se detecta la frecuencia cardíaca. Se realizan estudios en jaulas metabólicas<sup>10</sup>, Durante cuatro días los animales se acostumbran a su nuevo entorno y

dos días consecutivos se recogen muestras de orina y sangre. En ambas muestras se determina la creatinina mediante la reacción de Jaffé<sup>11</sup>, que servirá para determinar la filtración glomerular y también la cantidad de proteína total en orina mediante el método de Bradford<sup>12</sup>.

## Grupos experimentales

1. Grupo de ratas con 5/6 de reducción de la masa renal sin ningún tratamiento seguidas durante seis meses.
2. Grupo verapamil 20 mg/kg/día: ratas con 5/6 de reducción de la masa renal tratadas con verapamil 20 mg/kg/día durante seis meses.
3. Grupo trandolapril 0,7 mg/kg/día: ratas con 5/6 de reducción de la masa renal tratadas con trandolapril 0,7 mg/kg/día durante seis meses.
4. Grupo verapamil-trandolapril: ratas con 5/6 de reducción de la masa renal tratadas con verapamil 20 mg/kg/día y trandolapril 0,7 mg/kg/día durante seis meses.

## RESULTADOS

Todos los animales a lo largo de los seis meses aumentan de peso de forma significativa, sin existir diferencias según los grupos (fig. 1).

En la figura 2 se puede observar la supervivencia de los animales, una vez eliminados los que murieron durante la primera semana después de la reducción de masa renal. El grupo de ratas no tratadas presenta una elevada mortalidad, sobre todo durante los tres primeros meses de seguimiento. El tratamiento de los animales con verapamil retrasa la muerte, pero

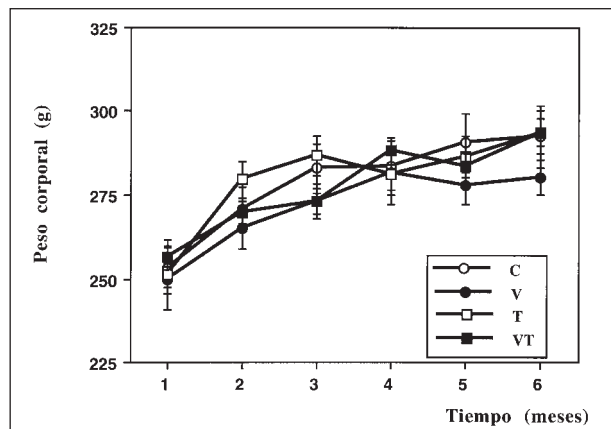


Fig. 1.- Evolución del peso corporal (g) de los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y la combinación verapamil + trandolapril (VT) vs tiempo de tratamiento (6 meses).

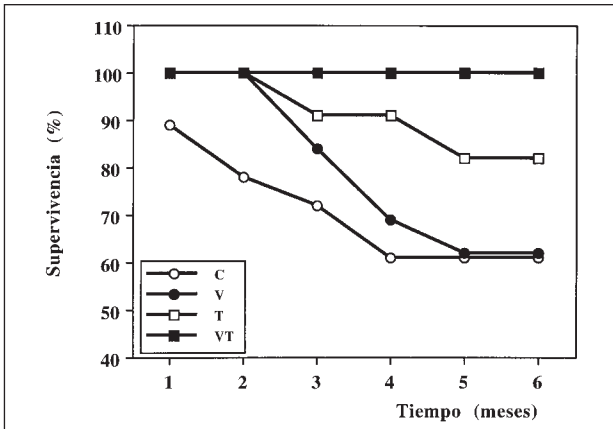


Fig. 2.—Porcentaje de animales que sobreviven en los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y verapamil + trandolapril (VT) a lo largo de los seis meses de tratamiento.

al final se alcanzan los valores del grupo no tratado. El trandolapril reduce considerablemente la mortalidad, de forma que al final del estudio ha sobrevivido el 87 % de los animales. Puede observarse cómo el tratamiento con la combinación del IECA y el ACA hace que el porcentaje de supervivencia sea del 100 %. En los resultados que se presentan a partir de ahora sólo se han incluido los animales que llegaron al final del estudio (seis meses de tratamiento): 11 en el grupo control, 9 en el grupo verapamil, 9 en el grupo trandolapril y 12 en el grupo verapamil + trandolapril.

Los valores de presión arterial media (PAM) (fig. 3) en el grupo de ratas no tratadas son de alrededor de 160 mmHg en el primer mes y aumentan paulatinamente a lo largo de los seis meses. En el grupo de animales tratados con verapamil, estos valores de al-

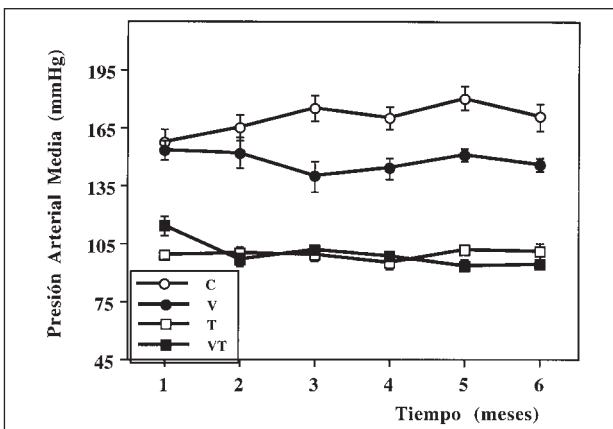


Fig. 3.—Presión arterial media (mmHg) de los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y combinación (VT) vs tiempo (meses) de tratamiento.

rededor de 160 mmHg se mantienen a lo largo de todo el estudio, siendo significativamente diferentes de los del grupo no tratado. Cuando los animales se tratan con trandolapril o con la combinación de éste con verapamil presentan un descenso considerable de la PAM, que empieza en el primer mes y se mantiene durante todo el tratamiento, no existiendo diferencias significativas entre estos dos grupos en este parámetro.

La frecuencia cardíaca (FC) se muestra en la figura 4. El grupo no tratado y el grupo trandolapril presentan mayor FC que los dos grupos tratados con el antagonista del calcio, aunque el grupo tratado con la combinación sufre a partir del tercer mes un aumento en la FC y alcanza los valores de los dos grupos anteriores.

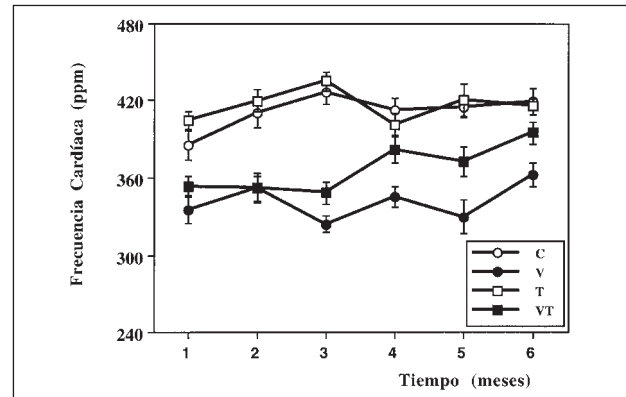


Fig. 4.—Frecuencia cardíaca (en pulsos por minuto) de los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y verapamil + trandolapril (VT) a lo largo de los seis meses de tratamiento.

En la figura 5 se observan los valores de flujo urinario (FU). Los animales no tratados son los que mayor diuresis presentan. El resto de los grupos se mantienen en valores más bajos durante todo el seguimiento.

Todos los animales muestran un aclaramiento de creatinina similar y éste se mantiene a lo largo de los seis meses de estudio (fig. 6).

La figura 7 representa los valores de excreción urinaria diaria de proteínas (EUP). En el grupo no tratado se observa un aumento sostenido de la EUP, de tal forma que en el sexto mes se excreta en la orina diariamente una media de  $237,6 \pm 49,1$  mg de proteína. En el grupo tratado con verapamil se observa que existe un retraso en la progresión de la proteinuria, sobre todo los tres primeros meses de tratamiento, para luego aumentar bruscamente y llegar a valores similares a los de los animales sin tratar. Muy diferente es el perfil que muestran los

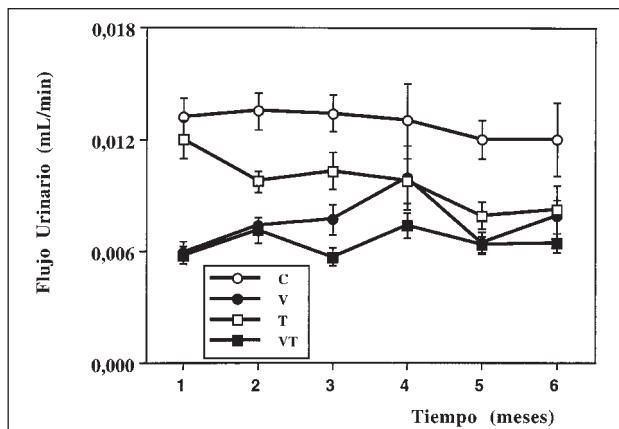


Fig. 5.—Evolución del flujo urinario (mL/min) de los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y verapamil + trandolapril (VT) vs tiempo de tratamiento (6 meses).

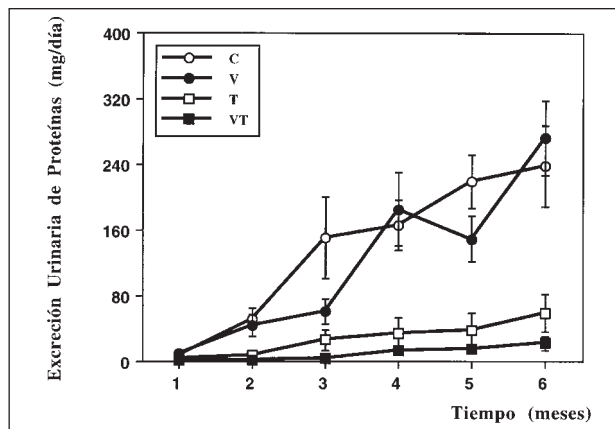


Fig. 7.—Excreción urinaria de proteínas (mg/día) de los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y combinación verapamil + trandolapril (VT) vs tiempo (meses) de tratamiento.

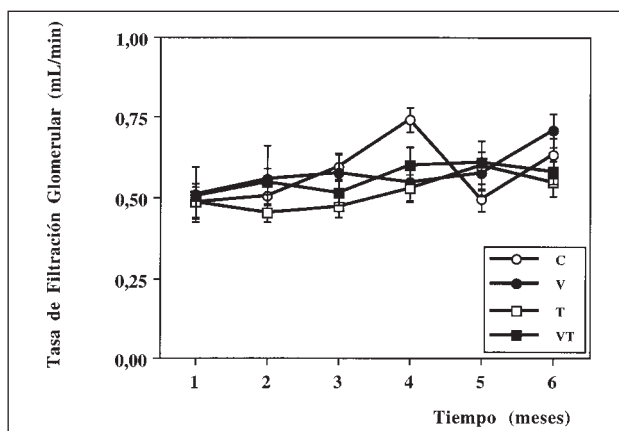


Fig. 6.—Evolución, a lo largo de seis meses de tratamiento de la tasa de filtración glomerular como aclaramiento de creatinina (mL/min) en los grupos control (C), verapamil (V), trandolapril (T) y verapamil + trandolapril (VT).

restantes grupos, de manera que los dos grupos tratados con el IECA, ya sea solo o en combinación con verapamil, presentan una proteinuria mucho menor, no sobrepasando los 60 mg/día en el grupo trandolapril y los 25 mg/día en el de la combinación del IECA más el ACa. Es importante destacar que la proteinuria fue menor en el grupo tratado con los dos agentes terapéuticos y que presentó diferencias significativas con respecto al grupo tratado con el trandolapril solamente.

En la figura 8 se representa la hipertrofia cardíaca. Puede observarse cómo disminuye ligeramente en el grupo tratado con verapamil, aunque la diferencia no es significativa, mientras que sí lo es en los grupos tratados con trandolapril o con la combinación.

## DISCUSION

El modelo de 5/6 de reducción de la masa renal presenta el inconveniente de la baja supervivencia de los animales al ser un procedimiento muy agresivo. Además del aumento en la PAM por retención hidrosalina, como consecuencia de la reducción de la masa renal se van a producir unos mecanismos de adaptación para mantener la homeostasis, tales como hipertrofia e hiperfunción en las neónoras remanentes. Estos mismos mecanismos de adaptación son los que van a causar la GSC. El grupo de animales no tratados y alguno de los grupos tratados presentan una elevada mortalidad. Entre las causas de muerte están la elevada presión arterial, los accidentes cerebrovasculares, y sobre todo, el deterioro renal. Vemos cómo el trandolapril reduce considerablemente este parámetro, hasta el punto de que en el caso de los

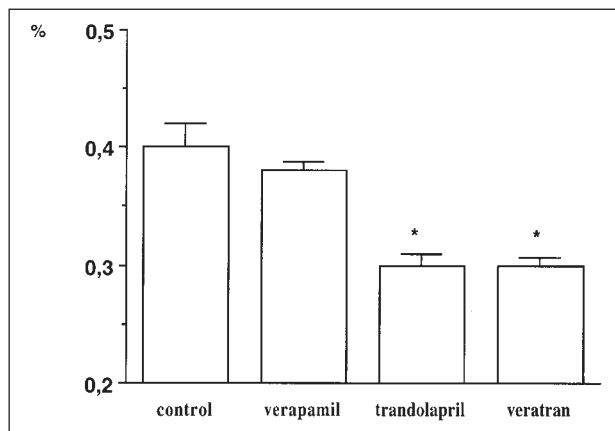


Fig. 8.—Grado de hipertrofia cardíaca (%) de los distintos grupos al final del tratamiento. \*  $p < 0,01$  vs control y vs verapamil.

tratados con la combinación de los dos agentes terapéuticos presentan una supervivencia del 100 %.

En el presente estudio, la reducción de 5/6 de la masa renal provoca hipertensión sistémica y proteinuria. Tanto la combinación trandolapril + verapamil como el IECA solo consiguen reducir la PAM (fig. 3) y los niveles de proteína excretada en la orina (fig. 7). Existen evidencias experimentales que demuestran cómo, en algunos casos, a pesar de conseguirse un descenso de la presión arterial, no se ha frenado la enfermedad renal<sup>2</sup>. Hay estudios en los cuales se ha demostrado la eficacia del tratamiento con IECA en hipertensión por reducción de la masa renal<sup>2, 13</sup>, SHR uninefrectomizadas<sup>14</sup>, ratas Dahl-S con ablación parcial renal<sup>15</sup>, diabetes mellitus<sup>16</sup>. Todos estos modelos se caracterizan por hipertensión intraglomerular e hipertrofia glomerular.

En nuestro estudio, el tratamiento con verapamil no ha evitado la proteinuria y el daño renal, coincidiendo con Brunner y cols.<sup>13</sup>. Esto posiblemente sea debido a que la dosis utilizada no es la suficiente para reducir la PAM. Se ha demostrado que los ACa inhiben el proceso de autorregulación<sup>17, 18</sup>, con lo cual habría un traslado de la hipertensión sistémica al glomérulo y un agravamiento del daño. Hay gran controversia en el uso de los antagonistas del calcio, sobre todo a la hora de decidir cuál es su efecto sobre la hemodinámica renal. Así, se encuentran estudios en los cuales afectarían preferentemente la arteriola aferente, aumentando la presión intraglomerular<sup>19</sup>; otros en los que no se encuentran afectadas las resistencias arteriolas renales ni la presión intraglomerular<sup>20</sup>, y casos en los que por vasodilatación preferentemente eferente provocarían un descenso en la presión dentro del glomérulo<sup>21, 22</sup>. Está mucho más claro su papel en la reducción de la hipertrofia compensatoria que sucede en este tipo de patologías. En este sentido, Dworkin y cols. (1993)<sup>4</sup> compararon los efectos a dosis equihipotensivas del enalapril (IECA) y de la nifedipina (antagonista de calcio) en el modelo de 5/6 de ablación renal. Observaron que ambos tratamientos conseguían evitar el deterioro renal en el caso del IECA por descenso de la presión intraglomerular y en el caso del ACa por evitar la hipertrofia compensatoria demostrado en el estudio histológico. Estos autores concluyen que ambos fenómenos, hipertensión glomerular e hipertrofia, tienen la misma relevancia en el desarrollo de la GSC.

De la misma forma, también se observa efecto protector cardíaco en los grupos tratados tanto con trandolapril como con la combinación de éste con verapamil. El grupo tratado con verapamil no muestra diferencias claras, pero tampoco consigue una reducción de presión arterial comparable a los otros dos grupos en los que sí es similar esa disminución.

Podemos, por tanto, afirmar que, en este caso, la reducción de la hipertrofia cardíaca está en función del descenso de la presión arterial sistémica.

En nuestro estudio queda demostrado que el uso de la combinación del ACa y el IECA presenta ventajas con respecto al tratamiento por separado. La adición del verapamil, sin modificar los niveles de PAM, consigue aumentar la eficacia del tratamiento a la hora de evitar el progreso hacia el deterioro renal, lo cual se refleja en una menor excreción urinaria de proteínas en el grupo tratado con la combinación del IECA y el ACa con respecto al resto de los grupos, así como una mayor supervivencia, que llega a ser del 100 % al cabo de los seis meses. Esto puede ser debido a que la terapia conjunta tiene efectos beneficiosos tanto reduciendo la presión intraglomerular por la vasodilatación eferente debida al IECA, y por otra parte, el ACa va a bloquear el efecto de la hipertrofia de la pared del vaso glomerular, con lo cual se frenan los dos factores implicados del aumento sostenido de la tensión en la pared del vaso, fenómeno responsable de la GSC.

## Bibliografía

1. Herrera-Acosta J: The role of systemic and glomerular hypertension in progressive glomerular injury. *Kidney Int* 45 (suppl. 45):S6S10, 1994.
2. Anderson S, Renke HG y Brenner BM: Therapeutic advantage of converting enzyme inhibitors in arresting progressive renal disease associated with systemic hypertension in the rat. *J Clin Invest* 77:1993-2000, 1986.
3. Tapia E, Gabbai FB, Calleja C, Franco M, Cermeño JL, Bobadilla NA, Pérez JM, Alvarado JA y Herrera-Acosta J: Determinants of renal damage in rats with systemic hypertension and partial renal ablation. *Kidney Int* 38:642-648, 1990.
4. Dworkin LD y Feiner HD: Glomerular injury in uninephrectomized spontaneously hypertensive rats. A consequence of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:797-809, 1986.
5. Fogo A e Ichikawa I: Evidence for the central role of glomerular growth in the development of sclerosis. *Semin Nephrol* 9:329-342, 1989.
6. Yoshida Y, Fogo A e Ichikawa I: Glomerular hemodynamic changes versus hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 35:654-660, 1989.
7. Kramer HJ, Meyer-Lerhnert H y Mohaupt M: Role of calcium in the progression of the renal disease. Experimental evidence. *Kidney Int* 41 (suppl 36):S2-S7, 1992.
8. Dworkin LD, Beinsein JA, Parker M, Tolbert E y Feiner DH: Calcium antagonists and converting enzyme inhibitors reduce renal injury by different mechanism. *Kidney Int* 43:808-814, 1993.
9. Shimamura T y Morrison AB: A progressive glomerulosclerosis occurring in partial five-sixths nephrectomized rats. *Am J Pathol* 79:95-101, 1975.
10. López-Farré A, Gómez-Garre DN, Bernabeu F y López-Novoa JM: A role for endothelin in the maintenance of postischemic acute renal failure. *J Physiol* 444:513-522, 1991.
11. Bosnes RW y Tauski HA: The colorimetric determination of creatinine of the Jaffé reaction. *J Biol Chem* 158:581, 1945.
12. Bradford MM: A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. *Analytical Biochem* 72:248-254, 1976.

## VERAPAMIL + TRANDOLAPRIL, HIPERTENSION Y GLOMERULOSCLEROSIS

13. Brunner FP, Thiel G, Hermle M, Bock HA y Mihatsch MJ: Long-term enalapril and verapamil in rats with reduced renal mass. *Kidney Int* 36:969-977, 1989.
14. Dworkin LD, Grosser M, Feiner HD, Ullian M y Parker M: Renal vascular effects of antihypertensive therapy in uninephrectomized SHR. *Kidney Int* 35:790-798, 1989.
15. Tolins JP y Raij L: Comparison of converting enzyme inhibitor and calcium channels blocker in hypertensive glomerular injury. *Hypertension* 16:452-461, 1990.
16. Zatz R, Dunn BR, Meyer TW, Anderson S, Rennke HG y Brenner BM: Prevention of diabetic glomerulopathy by pharmacologic amelioration of glomerular capillary hypertension. *J Clin Invest* 77:1925-1930, 1986.
17. Ono H, Kokubun H y Hashimoto K: Abolition by calcium antagonists of the autoregulation of renal blood flow. *Naunyn-Schiedeberg Arch Pharmacol* 285:201-207, 1974.
18. Ogawa N: Effects of nifedipine on the relationships of renal blood flow and of renal vascular resistance to perfusion pressure in dog kidney. *J Pharm Pharmacol* 42:138-140, 1990.
19. Loutzenhiser R y Epstein M: The renal hemodynamic effects of calcium antagonists. En *Calcium Antagonists and the Kidney*, Epstein M, Loutzenhiser R (eds.). Philadelphia, Hanley & Belfus, 1990, pp.33-74.
20. Pelayo JC, Harris DCH, Shanley PF, Miller GH y Schirer RW: Glomerular hemodynamic adaptations in remnant nephrons: Effects of verapamil. *Am J Physiol* 254:F425-F431, 1988.
21. Anderson S: Renal hemodynamic effects of calcium antagonists in rats with reduced renal mass. *Hypertension* 17:288-295, 1991.
22. Yoshioka T, Shiraga H, Yoshida Y, Fogo A, Glick AD, Deen WM, Hoyer JR e Ichikawa I: Intact nephrons as the primary origin of proteinuria in chronic renal disease. *J Clin Invest* 82:1614-1623, 1988.