



## ORIGINALES

# *Evolución de la función renal en ratas diabéticas con coartación de la arteria aorta*

**B. Gallego, M. A. Arévalo-Gómez\*, O. Flores, J. M. López-Novoa y F. Pérez Barriocanal**

Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. \*Departamento de Anatomía e Histología Humana. Universidad de Salamanca.

## RESUMEN

*La coexistencia de diabetes e hipertensión supone un alto riesgo de insuficiencia renal crónica. Hemos desarrollado un modelo de hipertensión renovascular progresiva, por coartación de la aorta entre las dos arterias renales, en ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, lo que permite tener dos riñones sometidos a diferente presión de perfusión en el mismo entorno metabólico. En los animales diabéticos se mantiene la glucemia entre 2-4 g/l con insulina. Durante tres meses se recogieron muestras de orina y plasma. Se determinaron la diuresis (FU), aclaramiento de creatinina (TFG), proteinuria (PU), glucosuria (GU), osmolalidad y electrolitos. Al final del estudio se midió la presión de perfusión (PP) de ambos riñones, se pesaron y, posteriormente, se fijaron y tiñeron para su observación al microscopio.*

*Los estudios de función renal mostraron que la excreción urinaria de electrolitos (Na, K, Cl) fue mayor en el grupo diabético a partir del primer mes. Tanto el FU como la GU y la osmolalidad fueron mayores en el grupo diabético que en el grupo control desde el principio del estudio. El aclaramiento de creatinina también es mayor en el grupo diabético inicialmente, pero disminuye con el tiempo hasta valores menores que los del grupo control. La PU aumenta ligeramente en el grupo control a lo largo del estudio, pero el aumento es mucho más pronunciado en el grupo diabético. La PP del riñón derecho fue mayor que la del izquierdo en ambos grupos, mientras que el peso renal sólo fue mayor en el grupo diabético.*

*Con estos resultados y la observación microscópica podemos decir que los animales diabéticos desarrollan más lesión renal que los controles y que esa lesión ocurre en el riñón sometido a hipertensión (derecho).*

Palabras clave: **Diabetes. Hipertensión renovascular. Coartación aórtica.**

Recibido: 23-VI-98.  
En versión definitiva: 30-X-98.  
Aceptado: 2-XI-98.

**Correspondencia:** Dr. F. Pérez Barriocanal  
Departamento de Fisiología y Farmacología  
Edificio Departamental  
Avda. Campo Charro, s/n.  
37007 Salamanca

## RENAL FUNCTION EVOLUTION IN DIABETIC AND AORTIC-CONSTRICTED HYPERTENSIVE RATS

### SUMMARY

*Diabetes and hypertension are frequently associated in humans and the patients run a higher risk of developing chronic renal failure. We combined streptozotocin-induced diabetes with a model of experimental renovascular hypertension induced by restricting aortic growth between the renal arteries. This model allowed us to have two kidneys in the same metabolic milieu; one exposed to hypertension and the other not. A moderate degree of hyperglycemia (2-4 g/l) was maintained with daily insulin. Determinations were made of urinary flow (UF), creatinine clearance (GFR), urinary protein excretion (UP), urinary glucose (UG), osmolality, and urinary electrolyte excretion. At the end of the study perfusion pressure (PP) and weight were measured in both the right and the left kidney in each group. All the kidneys were fixed and stained for microscopic observation.*

*Functional study showed that urinary electrolyte excretion was higher in the diabetic group than in the control group from the first month. UF, UG and GFR were higher in the diabetic group than in the control group from the beginning of the study. UP increased slightly in the control group along the study but the increase was much higher in the diabetic group. In both in the control and diabetic group, the right kidney was subject to a higher PP than the left one. Kidney weight was similar in the right and the left kidney in the control group but in the diabetic group it was higher in the right kidney than in the left and higher than in the control group in both kidneys.*

*In the right of these results and the histology we conclude that diabetic animals develop renal damage to a greater extent than non-diabetic and this lesion occurs only in the hypertensive (right) kidney. These experiments show that both diabetes and hypertension are necessary for the development of glomerulosclerosis.*

Key words: **Diabetes. Renovascular hypertension. Aortic constriction.**

### INTRODUCCION

La diabetes y la hipertensión están muy relacionadas y constituyen una asociación de muy alto riesgo de insuficiencia renal crónica terminal<sup>1</sup>. Los pacientes diabéticos, especialmente aquellos que padecen aterosclerosis en la vasculatura periférica, tienen, a menudo, un estrechamiento de las arterias renales, lo que provoca hipertensión renovascular<sup>2</sup>. Existen muchos modelos animales de hipertensión renovascular. En casi todos ellos se produce una constricción aguda de la aorta o de las arterias renales, lo que induce una caída brusca de la presión de perfusión del riñón<sup>3-6</sup>. Nuestro grupo ha desarrollado un modelo de hipertensión renovascular por restricción del crecimiento de la aorta entre las dos arterias renales. La característica de este modelo es el aumento lento y progresivo de la constricción, lo que evita cambios bruscos en la presión de perfusión renal<sup>7</sup>.

El mecanismo responsable del desarrollo de complicaciones secundarias a la diabetes mellitus, permanece sin aclarar completamente. Algunos estudios apoyan la hipótesis de que son los aumentos de presión intraglomerular y del flujo plasmático renal los que juegan el papel más importante en el desarrollo de la nefropatía diabética y no las alteraciones metabólicas<sup>8,9</sup>. Sin embargo, son muchas las anomalías que tienen lugar en la enfermedad diabética y todas ellas pueden contribuir al daño renal: productos de la glicosilación no enzimática aumentados, activación de la vía del poliol, alteraciones del balance de hormonas o citoquinas y otras anomalías bioquímicas debidas a la señalización intracelular<sup>10-13</sup>.

Nosotros hemos combinado la diabetes con el modelo descrito anteriormente e intentamos separar los efectos debidos a la hipertensión de los efectos debidos a las anomalías metabólicas, dado que el modelo nos permite tener dos riñones en el mismo entor-

no metabólico, uno expuesto a hipertensión y el otro no. Existen algunos estudios que combinan la diabetes con la hipertensión de tipo Goldblatt<sup>14</sup>, pero nuestro modelo tiene las ventajas de que la coartación es lenta y progresiva y, por tanto, no hay cambios bruscos en la presión de perfusión renal y, también, que permite conocer la presión de perfusión a la que está sometido el riñón situado por debajo de la ligadura.

## MATERIAL Y METODOS

### Animales, procedimiento experimental y grupos

Para la realización de este trabajo se han empleado ratas Wistar macho (Charles River, Francia) de peso comprendido entre 100-120 g. Se alimentaron con dieta estándar (Panlab, Madrid, España) y agua *ad libitum*. La luz se mantuvo en período de 8 a 20 horas y la temperatura en  $20 \pm 1^\circ \text{C}$ .

Los animales fueron sometidos a una laparotomía media y, según previamente describieron Martín-Paredero y cols.<sup>7</sup>, se coloca una ligadura de seda (4/0) alrededor de la aorta, entre las dos arterias renales situando un tubo de polietileno (PE-50; DE: 1.0 mm) paralelo a la aorta. Con la ligadura se sujeta el tubo y la aorta. A continuación se retira el tubo, lo que permite a la aorta reexpandirse dentro de la ligadura. Como el diámetro del tubo es ligeramente mayor que el de la aorta, no se produce constricción inmediata. Se producirá posteriormente, con el crecimiento del animal. Se cierra cuidadosamente la pared abdominal y se deja una semana para que el animal se recupere.

Los animales se dividieron en dos grupos experimentales: un grupo control, de ratas coartadas que no recibió la inyección de STZ y un grupo diabético, que recibió la inyección de STZ.

El proceso diabético, de características similares a la diabetes tipo I, se indujo una semana después de la cirugía mediante una inyección intraperitoneal de 60 mg/kg de estreptozotocina (STZ) (Sigma Chemical Co. St. Louis, USA). Cuarenta y ocho horas después de la inyección de STZ, los animales habían desarrollado hiperglucemia, con valores mayores de 2 g/l, en sangre recogida de la cola de la rata (Destrostix, Ames, Madrid, España). Las ratas diabéticas recibieron inyecciones diarias de insulina (Sigma Chemical Co) administrada subcutáneamente y en dosis ajustadas individualmente para mantener la glucemia entre 2-4 g/l ya que estos valores reducen la mortalidad a la vez que permiten el establecimiento de las alteraciones funcionales del riñón diabético<sup>8</sup>. El nivel de glucosa en sangre se determinó dos veces por semana.

Desde el segundo día tras el establecimiento de la diabetes (mes cero), se midió, mensualmente, la presión arterial media, así como la frecuencia cardíaca mediante un esfigmomanómetro digital (LETICA LE 5000, Letica, Barcelona, España). Se trata de un método no invasivo que mantiene al animal inmovilizado pero despierto<sup>15</sup>. Una vez que la rata se había adaptado, la toma de presión se repitió al menos tres veces hasta obtener una medida estable.

También mensualmente, los animales se introdujeron en jaulas metabólicas durante 4 días, dos días para acostumbrarse al nuevo entorno y otros dos días para recoger orina<sup>16</sup>. La orina, limpia de comida y heces se recogió diariamente en probetas graduadas con 1 ml de aceite mineral. En la orina recogida se determinaron los siguientes parámetros: diuresis, proteínas, creatinina, glucosa, electrolitos y osmolalidad.

Cada mes, antes de introducirlos en las jaulas metabólicas, los animales se pesaron y se les controló la ingestión de alimento. También se obtuvieron muestras de sangre de la cola del animal, para determinar el hematocrito y la concentración de proteínas y creatinina.

### Determinaciones analíticas

La concentración urinaria de proteínas se midió colorimétricamente por el método de Bradford<sup>17</sup>. La creatinina se determinó por un método colorimétrico basado en la reacción de Jaffé<sup>18</sup>.

Las concentraciones de sodio y potasio se determinaron mediante fotometría de llama (Meteor NAK II, Madrid, España). La concentración de cloruro se determinó utilizando un clorurímetro de electrodo de plata (Analytical control, modelo 106. S.P.A., Turín, Italia). La osmolalidad de la orina se midió con un osmómetro de descenso de presión de vapor (Wescor Inc. Modelo 5100 C, UTA, USA). La cantidad de glucosa total excretada al día se determinó mediante un método colorimétrico con O-toluidina<sup>19</sup>.

Las muestras de sangre se centrifugaron (microfuge ALC, Milan, Italia) para determinar el hematocrito. La concentración de proteínas en plasma se midió por refractometría (American Optical, Box 123, Buffalo, New York, USA). El análisis de la creatinina plasmática se realizó de igual forma que la creatinina urinaria, desproteinizando previamente el plasma con ácido tricloroacético (5%).

### Estudio agudo

Al final del seguimiento (tres meses), las arterias carótida y femoral se conectaron a un transductor

de presión para registrar continuamente la presión de perfusión (PP) de ambos riñones. La presión arterial en la carótida (PAC) nos indica la presión de perfusión del riñón derecho (por encima de la ligadura) y la presión en la femoral (PAF) la del riñón izquierdo (por debajo de la ligadura).

A continuación, las ratas se perfundieron con salino isotónico para eliminar la sangre y los riñones se extrajeron y se pesaron. Se cortó un polo del riñón que incluía corteza y médula y se fijó por inmersión en formaldehído tamponado al 4% durante 24 horas. Los bloques obtenidos se deshidrataron en etanol de gradación creciente y se incluyeron en parafina. Se cortaron secciones de 3 µm de grosor, se montaron en portas y se tiñeron con hematoxilina-eosina, ácido periódico de Schiff (PAS) y tricrómico de Masson para los estudios de microscopía óptica.

### Análisis estadístico

Para evaluar la normalidad de los datos se utilizó el test de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados se expresaron como media ± EEM para los datos paramétricos y como mediana y rango para los no paramétricos. El análisis estadístico se llevó a cabo mediante el análisis de la varianza de una (ANOVA 1) o de dos vías (ANOVA 2) cuando comparamos grupos y, a continuación, se aplicó el test de Sheffé cuando los datos estaban normalmente distribuidos y el de Kruskal-Wallis cuando no estaban normalmente distribuidos. Consideramos significativo un valor de p menor que 0,05 y un valor de z mayor que 1,96.

### RESULTADOS

En la tabla I, podemos observar los datos de peso corporal, ingestión de alimento, hematocrito, proteínas plasmáticas y glucemia. Todos los animales mostraron aumento de peso a lo largo del estudio,

aunque el aumento fue mayor en el grupo control que en el grupo diabético. Por el contrario, la ingestión de alimento fue mayor en el grupo diabético que en el control. Los valores de hematocrito fueron semejantes en los dos grupos. También las proteínas plasmáticas fueron similares en ambos grupos, excepto en el último mes, en el que fueron más altas en el grupo diabético. La glucemia se mantuvo a lo largo del estudio en valores normales en el grupo control y en valores en torno a los 3-4 g/l en el grupo diabético.

La presión arterial en la cola no mostró diferencias entre los dos grupos y se mantuvo a lo largo del estudio en valores de alrededor de 120-130 mmHg. La frecuencia cardíaca también fue similar en ambos grupos pero hubo una disminución en el primer mes, a partir del cual se mantuvo en valores de 335 latidos/minuto (datos no mostrados).

En la figura 1 se representa el flujo urinario, que fue mayor en el grupo diabético durante todo el tiempo que duró el experimento. La creatinina en plasma (fig. 2A) también fue mayor en el grupo diabético y aumentó a lo largo del estudio en los dos grupos. El aclaramiento de creatinina (fig. 2B) se mantuvo prácticamente constante en el grupo control durante todo el seguimiento. En el grupo diabético fue mucho mayor en el mes cero y ya en el primer mes descendió hasta valores control y continuó descendiendo ligeramente hasta el final del estudio, aunque no significativamente respecto al grupo control.

La excreción urinaria de proteínas se muestra en la figura 3. Se observa que en el grupo control aumentó poco a lo largo del estudio mientras que sí lo hizo, de forma acusada, en el grupo diabético.

En la tabla II se muestra la excreción urinaria de electrolitos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>). Puede observarse que desde el primer mes todas son mayores en el grupo diabético que en el grupo control.

La excreción urinaria de glucosa y de osmoles es mucho mayor en el grupo diabético ya desde el mes cero (tabla II).

**Tabla I.** Parámetros fisiológicos durante los tres meses de seguimiento

	Peso corporal g		Comida g		Hematocrito %		Proteínas plasma g/100 ml		Glucemia g/l	
	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.
Mes 0	163 ± 8	189 ± 8	22,0	29,7	45 ± 1	44 ± 1	7,3 ± 0,1	7,4 ± 0,2	1,51 ± 0,06	3,61 ± 0,13*
Mes 1	333 ± 12#	316 ± 16#	27,2	32,3	48 ± 1#	50 ± 1#	8,6 ± 0,3#	8,0 ± 0,1	1,53 ± 0,06	3,54 ± 0,15*
Mes 2	395 ± 18#	371 ± 11#	27,0	35,1	50 ± 1#	51 ± 1#	8,8 ± 0,4#	8,0 ± 0,2	1,66 ± 0,08	3,32 ± 0,17*
Mes 3	447 ± 19#	409 ± 14#	23,0	30,5	50 ± 1#	50 ± 1#	8,6 ± 0,3#	9,7 ± 0,2*#	1,61 ± 0,08	3,49 ± 0,11*

Datos expresados como media ± EEM. n = 8 para el grupo control y n = 5 para el grupo diabético. \*p < 0,05 vs grupo control. #p < 0,05 vs mes 0.

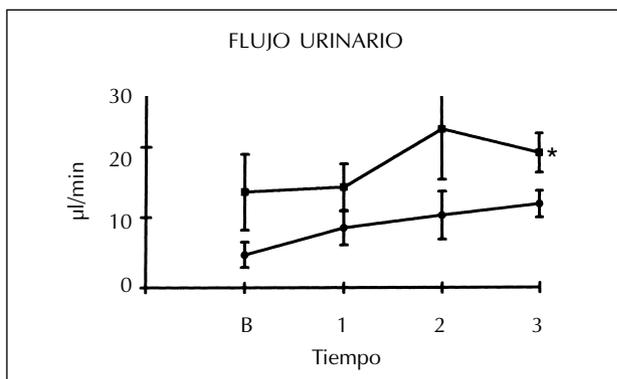


Fig. 1.—Evolución del flujo urinario ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) a lo largo de los tres meses de seguimiento. (●) grupo control ( $n = 8$ ); (■) grupo diabético ( $n = 5$ ). Datos expresados como media  $\pm$  EEM. \* $p < 0,05$  vs control.

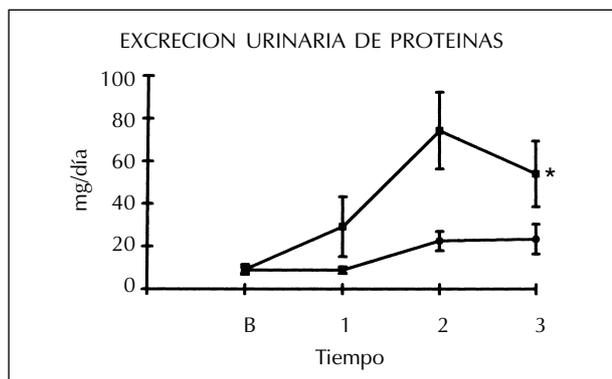


Fig. 3.—Evolución de la excreción urinaria de proteínas ( $\text{mg}/\text{día}$ ) durante los tres meses de seguimiento. (●) grupo control ( $n = 8$ ); (■) grupo diabético ( $n = 5$ ). Datos expresados como media  $\pm$  EEM. \* $p < 0,05$  vs control.

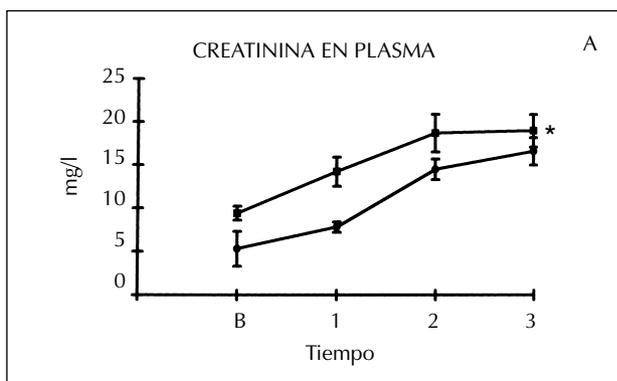
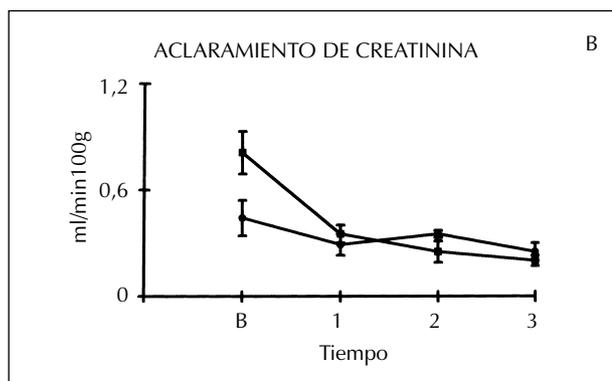


Fig. 2.—Evolución de la concentración de creatinina en plasma (A) ( $\text{mg}/\text{l}$ ) y del aclaramiento de creatinina (B) ( $\text{ml}/\text{min } 100 \text{ g}$ ) a lo largo de los tres meses de estudio. (●) grupo control ( $n = 8$ ); (■) grupo diabético ( $n = 5$ ). Datos expresados como media  $\pm$  EEM. \* $p < 0,05$  vs control.



**Tabla II.** Excreción urinaria de sodio, potasio, cloruro, glucosa y osmoles a lo largo de los tres meses de seguimiento

	E.U. Sodio mEq/día		E.U. Potasio mEq/día		E.U. Cloruro mEq/día		E.U. Glucosa g/día		E.U. Osmoles mOsm/día	
	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.	Control	Diabet.
Mes 0	0,61 $\pm$ 0,10	0,41 $\pm$ 0,10	2,09 $\pm$ 0,17	1,75 $\pm$ 0,45	0,58 $\pm$ 0,06	0,24 $\pm$ 0,05*	(1,71 $\pm$ 0,42) $10^{-2}$	1,78 $\pm$ 0,60*	12,0 $\pm$ 1,0	22,9 $\pm$ 4,0*
Mes 1	0,35 $\pm$ 0,06#	0,75 $\pm$ 0,15*	0,99 $\pm$ 0,16#	3,09 $\pm$ 0,45*#	0,18 $\pm$ 0,04#	0,61 $\pm$ 0,07*#	(0,98 $\pm$ 0,27) $10^{-2}$	1,93 $\pm$ 0,64*	10,1 $\pm$ 1,2	29,1 $\pm$ 4,0*
Mes 2	0,33 $\pm$ 0,06#	1,91 $\pm$ 0,65*#	1,26 $\pm$ 0,19#	3,72 $\pm$ 0,40*#	0,19 $\pm$ 0,04#	0,64 $\pm$ 0,07*#	(2,31 $\pm$ 0,96) $10^{-2}$	8,34 $\pm$ 2,97*#	11,7 $\pm$ 1,0	42,3 $\pm$ 5,7*#
Mes 3	0,45 $\pm$ 0,10	0,75 $\pm$ 0,12*#	2,09 $\pm$ 0,75	2,89 $\pm$ 0,47	0,26 $\pm$ 0,07#	0,48 $\pm$ 0,06*	(0,76 $\pm$ 0,15) $10^{-2}$	4,12 $\pm$ 0,32*#	12,9 $\pm$ 1,4	32,2 $\pm$ 4,5*

Datos expresados como media  $\pm$  EEM.  $n = 8$  para el grupo control y  $n = 5$  para el grupo diabético. \* $p < 0,05$  vs grupo control. #  $p < 0,05$  vs mes 0.

En la tabla III se puede observar el peso de cada uno de los riñones. Los dos riñones del grupo control presentaron igual peso, mientras que, en el grupo diabético, el riñón derecho mostró un peso

superior al del riñón izquierdo y también superior al del grupo control.

La presión de perfusión a la que están sometidos los riñones derechos de ambos grupos es

**Tabla III.** Peso renal y presión de perfusión a la que están sometidos los riñones

Grupo	P RD g	P RI g	PP RD mm Hg	PP RI mm Hg
Control (n = 8)	1,34 ± 0,06	1,27 ± 0,11	147 ± 3#	131 ± 3
Diabét. (n = 5)	1,87 ± 0,31*#	1,36 ± 0,23	167 ± 7*#	140 ± 4*

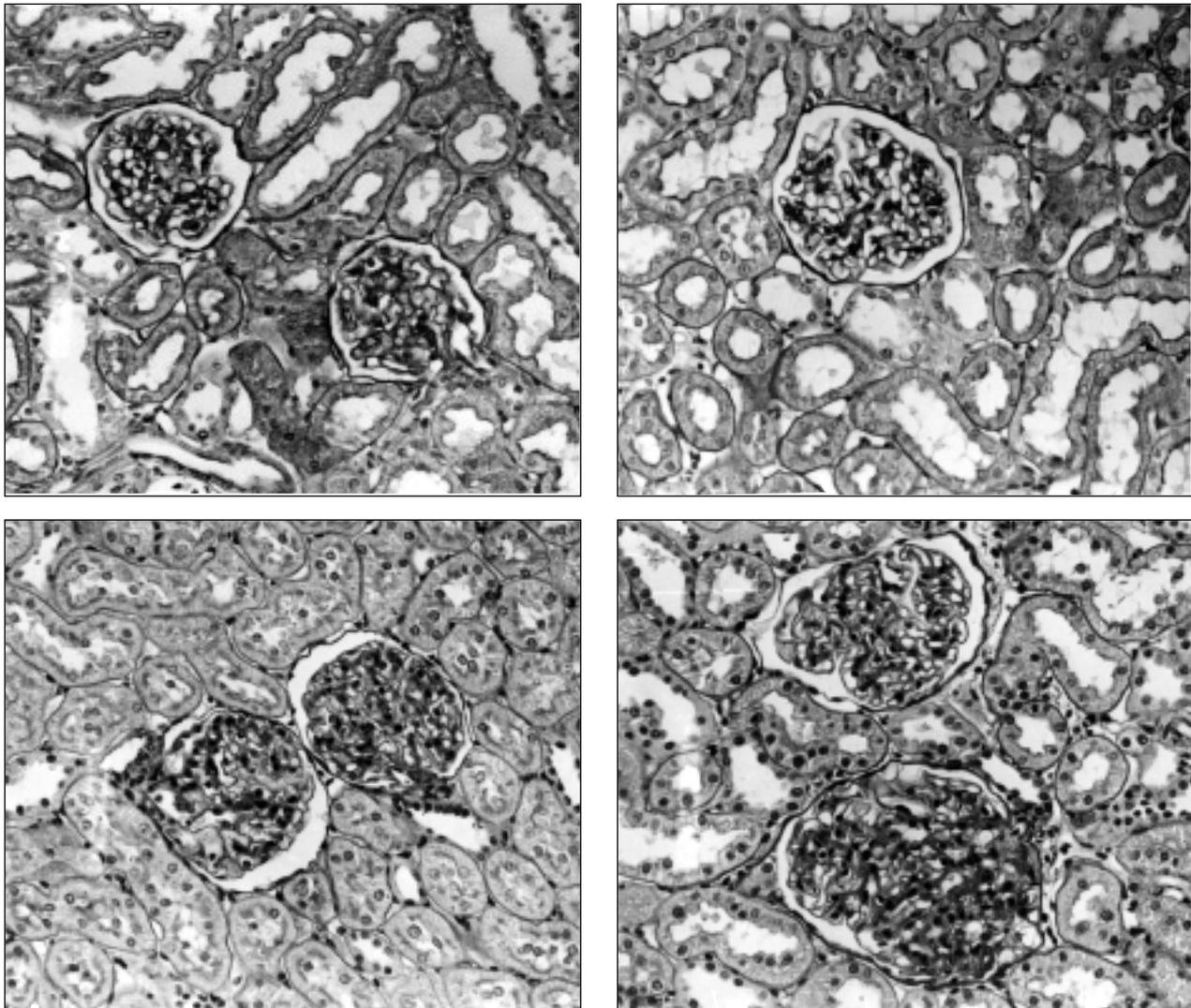
P RD: Peso del riñón derecho, P IR: peso del riñón izquierdo, PP RD: presión de perfusión a la que está sometido el riñón derecho, PP IR: presión de perfusión a la que está sometido el riñón izquierdo. Los datos están expresados como media ± EEM. \*p < 0,05 vs su correspondiente riñón en el grupo control. #p < 0,05 vs riñón izquierdo.

mayor que la de los izquierdos y, en el grupo diabético, ambos riñones están sometidos a una pre-

sión mayor que sus correspondientes en el grupo control (tabla III).

### Estudios histológicos

El examen al microscopio óptico de las preparaciones histológicas del grupo control teñidas con hematoxilina-eosina mostró, tanto en los riñones izquierdos (fig. 4A) como derechos (fig. 4B), un patrón morfológico prácticamente normal. Solamente se observa un ligero reforzamiento del área mesangial en determinados glomérulos cuando se estudiaban las preparaciones teñidas con PAS y tricómico de Masson. En este grupo no se observa-



*Fig. 4.—Microfotografías de corteza renal pertenecientes a riñón izquierdo de un animal control (A), riñón derecho de un animal control (B), riñón izquierdo de un animal diabético (C) y riñón derecho de un animal diabético (D). Tinción con PAS. 269X.*

ron lesiones vasculares en ninguno de los dos riñones.

En el grupo de animales diabéticos, el área renal túbulo-intersticial no presentaba alteraciones evidentes en ninguno de los riñones (figs. 4C y 4D) al compararlos con los controles. Sin embargo, los corpúsculos renales aparecían aumentados de tamaño y la observación con las técnicas de PAS y Masson revelaba un aumento ligero de matriz mesangial, de forma más apreciable en riñones derechos (fig. 4D). Únicamente en estos riñones derechos se puede ver un ligero reforzamiento fibroso de las paredes vasculares, aunque la mayor parte de los vasos presentan las luces permeables.

## DISCUSION

Este modelo de estudio nos permite diferenciar los efectos renales debidos a las alteraciones hemodinámicas de los debidos a alteraciones metabólicas, ya que con este modelo conseguimos tener dos riñones sometidos al mismo entorno metabólico pero a diferente presión. La importancia de los cambios hemodinámicos o los metabólicos hace tiempo que es motivo de controversia<sup>9,20</sup>.

El estudio crónico realizado en este trabajo nos confirma que en la diabetes mellitus tienen lugar una serie de alteraciones orgánicas que se manifiestan desde el establecimiento de la misma hasta el final del estudio, como son el menor aumento de peso, la hiperfagia y el aumento de la diuresis.

La excreción urinaria de electrolitos también fue superior en el grupo diabético a partir del primer mes de seguimiento. Este aumento es debido parcialmente a la mayor ingestión de electrolitos debido a la hiperfagia y también a que la glucemia elevada da lugar a diuresis osmótica y, por tanto, mayor pérdida de fluidos y electrolitos<sup>21</sup>.

El aclaramiento de creatinina fue mayor en el grupo diabético que en el control en el mes cero. La hiperfiltración es característica de la diabetes temprana, ya que desde los dos días del establecimiento de la diabetes se han observado aumentos en la tasa de filtración glomerular y en el flujo plasmático renal<sup>22</sup>. A partir del primer mes ya no hay diferencia respecto al grupo control, posiblemente porque la función renal ya comenzó a empeorar.

La excreción urinaria de proteínas, indica que, en el grupo diabético, ya desde el primer mes, se observa un cierto grado de lesión renal<sup>23</sup>. Aunque en el grupo control también se observa una ligera proteinuria al final del estudio, debido a que también está sometido a la coartación, ésta es mucho menor que en el grupo diabético. La proteinuria observada

puede explicarse por los cambios hemodinámicos que tienen lugar en la diabetes, principalmente por la disminución de la resistencia arteriolar aferente, lo que permite una mejor transmisión de la presión sistémica al glomérulo y provoca una lesión glomerular progresiva debida a la hipertensión intraglomerular<sup>24</sup>. Además, la ligadura también contribuye a ese aumento de la presión intraglomerular, al aumentar la presión de perfusión a que está sometido el riñón que queda por encima de ella. Esto es lo que ocurre en los animales control. La diferencia está en que en estos la autorregulación funciona mejor que en los diabéticos y la transmisión de la hipertensión al glomérulo, aunque ocurre, no está tan favorecida.

La proteinuria aumentada nos permite decir que hay una lesión renal, pero no saber de qué riñón proviene. Los estudios histológicos nos demuestran que es el riñón situado por encima de la ligadura, y por lo tanto sometido también a hipertensión, el que tiene un daño renal más marcado.

Estos datos demuestran experimentalmente que para el desarrollo del daño renal en la diabetes, tanto la diabetes como la hipertensión parecen necesarias. Esta afirmación se basa en el hecho de que en las ratas diabéticas, el riñón situado por debajo de la ligadura, sometido al mismo entorno diabético que el otro, pero sin hipertensión, no presenta daño renal evidente. Asimismo, en los animales no diabéticos, el riñón situado por encima de la ligadura, que recibe una presión arterial similar al riñón derecho de las ratas diabéticas, pero no está sometido al entorno diabético, tampoco tiene daño renal importante. Sin embargo, tal afirmación no quiere decir que la diabetes sin hipertensión no provoque lesión renal, sino que de los dos factores que se cree que son más importantes para ello (hipertensión glomerular e hiperglucemia) los dos son necesarios. En la diabetes sin hipertensión también está descrito que aumenta la presión intraglomerular<sup>9,24</sup> y el daño renal ocurre pero más lentamente que si se combina con hipertensión.

El hecho de que, en nuestros resultados, sea mayor la proteinuria en el segundo mes que en el tercero puede ser debido a que también en ese mes es mayor la ingestión de alimento, y las dietas altas en proteínas favorecen el avance hacia la nefropatía diabética<sup>25,26</sup>.

Las alteraciones hemodinámicas mencionadas anteriormente, junto con otras metabólicas y/o hormonales<sup>27</sup> llevan a un deterioro de la barrera de filtración. Este deterioro, unido a la hipertrofia y la hiperfunción, por una serie de mecanismos conocidos, entre los que destaca la actuación de factores de crecimiento como el TGF- $\beta$  y el IGF-I<sup>28</sup>, finalmente

dará lugar a un desequilibrio entre la síntesis y degradación de la matriz extracelular, lo que se traduce en glomeruloesclerosis y fibrosis intersticial y por tanto en pérdida de la capacidad funcional del riñón<sup>29</sup>.

En un estudio similar<sup>14</sup>, que combina el modelo de Goldblatt 2 riñones-1 clip con diabetes se llega a la conclusión de que los riñones con estenosis renal están parcialmente protegidos frente al desarrollo de los cambios glomerulares típicos de la diabetes, mientras que los riñones contralaterales de las ratas diabéticas, expuestos a hipertensión, la glomerulopatía diabética está acelerada. Nuestros resultados están de acuerdo con este estudio, aunque el modelo de coartación aórtica presenta las ventajas de que la caída de presión de perfusión en el riñón izquierdo, así como la hipertensión en el derecho, no es tan brusca como la que tiene lugar en el modelo de Goldblatt, lo cual está más próximo a la situación fisiológica. Además, nos permite conocer la presión de perfusión a la que está sometido el riñón situado por debajo de la ligadura.

Como conclusión, podemos afirmar que los animales diabéticos desarrollan fibrosis glomerular, pero no intersticial, en mayor extensión que los no diabéticos y que esa lesión ocurre únicamente en el riñón sometido a hipertensión (derecho). Nuestros experimentos demuestran, por tanto, que tanto la diabetes como la hipertensión son necesarias para el desarrollo de glomeruloesclerosis.

## BIBLIOGRAFIA

1. Steffes MW, Mauer SM: Diabetic nephropathy: a disease causing and complicated by hypertension. *Clin Chem* 37: 1838-1842, 1991.
2. Beromiade VC, Lefevre R, Falardau R: Unilateral nodular diabetic glomerulosclerosis: recurrence of an experiment of nature. *Am J Nephrol* 7: 55-59, 1987.
3. Bianchi G, Baldoli E, Lucca R, Barbin P: Pathogenesis of arterial hypertension after the constriction of the renal artery leaving the opposite intact both in the anesthetized and in the conscious dogs. *Clin Sci* 42: 651-664, 1972.
4. Carretero O, Romero JC: Production and characteristics of experimental hypertension in animals. En: *J Genest Hypertension*. Montreal: McGraw-Hill 487-506, 1977.
5. Ferrario CM, Blumbe C: Externally adjustable renal artery clamp. *J Appl Physiol* 4: 635-645, 1971.
6. Goldblatt HJ, Lynch R, Hanzal F, Summerville WW: Studies on experimental hypertension. The production of persistent elevation of systolic blood pressure by means of renal ischemia. *J Exp Med* 59: 347, 1945.
7. Martín-Paredero V, Casado S, López-Novoa JM: Progressive renovascular hypertension by increasing aortic constriction in rats. *Eur J Clin Invest* 14: 262-267, 1984.
8. Hostetter TH, Troy JL, Brenner BM: Glomerular hemodynamics in experimental diabetes mellitus. *Kidney Int* 19: 410-415, 1981.
9. Zatz R, Meyer TW, Rennke H, Brenner BM: Predominance of hemodynamic rather than metabolic factors in the pathogenesis of diabetic glomerulopathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 5963-5967, 1985.
10. Cohen MP, Ziyadeh FN: Amadori glucose adducts modulate mesangial cell growth and collagen gene expression. *Kidney Int* 45: 475-484, 1994.
11. Hostetter T: Pathogenesis of diabetic nephropathy. En: Mitch W (ed). *The progressive nature of renal disease*. Contemp Issues Nephrol. New York: Churchill Livingstone 14: 59-72, 1986.
12. Ziyadeh FN, Goldfarb S, Kern EFO: Diabetic nephropathy. Metabolic and biochemical mechanism. En: Brenner BM, Stein JH (eds.): *The Kidney in diabetes*. New York, Churchill: Livingstone 20: 87-113, 1989.
13. Ziyadeh FN: The extracellular matrix in diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 22: 736-744, 1993.
14. Mauer SM, Steffes MW, Azar S, Sandberg SK, Brown DM: The effects of Goldblatt hypertension on development of the glomerular lesions of diabetes mellitus in the rat. *Diabetes* 27 (7): 738-744, 1978.
15. Pfeffer JM, Pfeffer MA, Frohlich DE: Validity of an indirect tail-cuff method for determining systolic arterial pressure in unanesthetized normotensive and spontaneously hypertensive rats. *J Lab Clin Med* 78: 957-962, 1971.
16. López-Farré A, Gómez-Garre DN, Bernabéu F, López-Novoa JM: A role for endothelin in the maintenance of postischemic-acute renal failure. *J Physiol* 444: 513-522, 1991.
17. 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.
18. Bonsnes RW, Tausski HA: The colorimetric determination of creatinine of the Jaffé reaction. *J Biol Chem* 158: 581, 1945.
19. Hyvarinen A, Nikkila EA: Specific determination of blood glucose with O-toluidine. *Clin Chim Acta* 7: 140-143, 1962.
20. Larkins RG, Dunlop ME: The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetología* 35: 499-504, 1992.
21. Tomlinson KC, Gardiner S, Bennet T: Diabetes mellitus in Brattleboro rats: cardiovascular, fluid and electrolyte status. *Am J Physiol* 256: R1279-R1285, 1989.
22. Jensen PK, Christiansen JS, Steven K, Parving HH: Renal function in streptozotocin-diabetic rats. *Diabetología* 21: 409-414, 1981.
23. Mogensen CE: Microalbuminuria as a predictor of clinical diabetic nephropathy. *Kidney Int* 31: 673-689, 1987.
24. Tolins JP, Shultz P, Raji L: Mechanisms of hypertensive glomerular injury. *Am J Cardiol* 62: 54G-58G, 1988.
25. Wen SF, Huang TP, Moorthy AV: Effects of low protein diet on experimental diabetic nephropathy in the rat. *J Lab Clin Med* 106: 589-597, 1985.
26. Fouque D, Laville M, Boissel JP, Chifflet R, Laveeuw M, Zeeh PY: Controlled low protein diets in chronic renal insufficiency: meta-analysis. *Br Med J* 304: 216-220, 1992.
27. Bank M: Mechanisms of diabetic hyperfiltration. *Kidney Int* 40: 792-807, 1991.
28. Pérez-Barriocanal F, Gallego B, López-Novoa JM: Papel de los factores de crecimiento en la insuficiencia renal crónica secundaria a la diabetes. Efecto del tratamiento antihipertensivo. *Endocrinología* 44 (3): 89-97, 1997.
29. Mauer SM: Structural-functional correlation of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 45: 612-622, 1994.