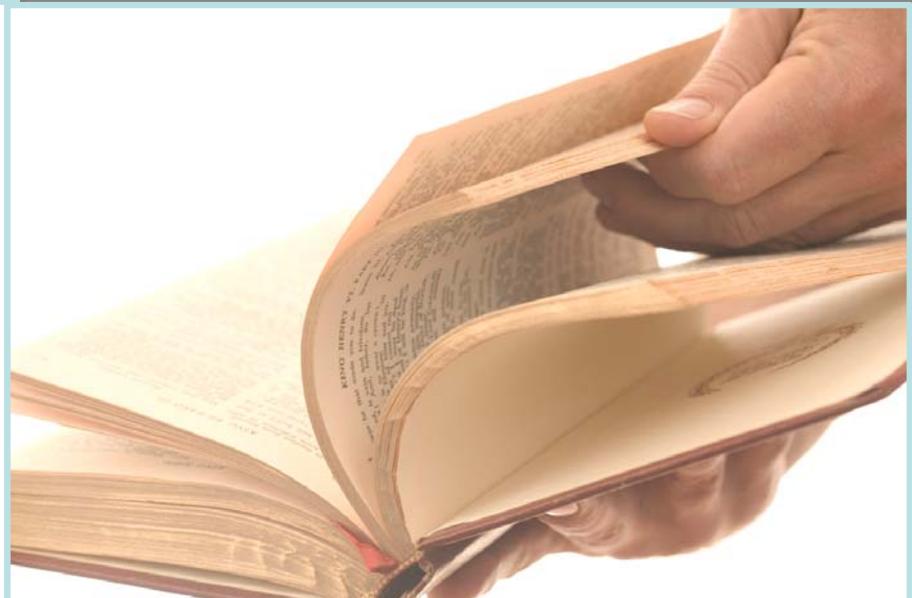


ANTECEDENTES



2.- ARTERIOSCLEROSIS Y ENFERMEDAD RENAL

2.1.-LESIONES ARTERIOSCLERÓTICAS

La esclerosis y sus complicaciones continúan liderando las causas de mortalidad en los países desarrollados.

La lesión característica de la arteriosclerosis es la denominada placa de ateroma. En su formación, la placa de ateroma está precedida por una estría lipídica, una acumulación de células en el endotelio (Stary et al 1994). En su mayor parte estas estrías lipídicas están compuestas por los macrófagos y algún linfocito T. Cuando estas lesiones progresan forman el ateroma.

Las lesiones arterioscleróticas o ateroma son engrosamientos asimétricos focales situados en la porción mas profunda de la arteria llamada íntima. Se componen de células musculares lisas, elementos del tejido conectivo y un centro necrótico que contiene células en degeneración, y macrófagos (Stary et al 1995). Entre sus componentes, las células inflamatorias, células del sistema inmunitario constituyen una parte importante del ateroma. Dentro del ateroma las células espumosas y las gotas lipídicas extracelulares y cristales de colesterol forman una región grumosa; la cual está rodeada por una capa fibrosa que consiste en tejido conectivo denso, células de músculo liso, linfocitos T y macrófagos. (Hanson, 2005).

Cuando tiene lugar la disfunción endotelial muchas de las células del sistema inmunitario presentan signos de inflamación y producen citoquinas inflamatorias. (Kovanen et al, 1995; Hanson et al 1899), a

continuación, linfocitos T, macrófagos y células mastoideas infiltran la lesión.

Hay dos causas principales de trombosis coronaria: la ruptura de la placa y la erosión endotelial. La ruptura de la placa, que es detectable en un 60-70% de los casos (Davies et al 1995; Falk et al 1995) es peligrosa porque se expone material protrombótico del núcleo de la placa (fosfolípidos, factores tisulares, moléculas adhesivas de plaquetas) a la sangre. La erosión se da donde la capa fibrosa está adelgazada y parcialmente destruida. En esos sitios la activación de células del sistema inmunitario es abundante (Van der Wal, 1994). Ellas producen numerosas moléculas inflamatorias y enzimas proteolíticos que pueden debilitar la capa y activan células del núcleo transformando la placa estable en vulnerable e inestable, estructura que puede romperse, inducir un trombo o provocar un síndrome coronario agudo. Hoy en día, es aceptado que la activación de la placa más que la estenosis, es la causante de isquemia e infarto.

Múltiples factores contribuyen a la patogénesis de la arteriosclerosis, como es la hipercolesterolemia, ésta causa una activación focal del endotelio en arterias grandes y medianas, la infiltración y retención de LDL en la íntima de la arteria inicia una respuesta inflamatoria en la pared arterial (Skalen et al 2002 y Leitenger 2003). La modificación de LDL por oxidación o ataque enzimático a la íntima permite la liberación de fosfolípidos que pueden activar a las células endoteliales.

La disfunción endotelial inducida por la dislipemia se inicia con la alteración del flujo hemodinámico y la acumulación de lípidos, a continuación las plaquetas son las primeras células sanguíneas en llegar a la activación endotelial (Massberg 2002) sus glicoproteínas Ib y IIb IIIA conectan moléculas a las células endoteliales. Cuando las células endoteliales activadas expresan distintos tipos de moléculas de adhesión de leucocitos (Ericsson 2001); la molécula vascular de adhesión I (VCAM-1) es regulada en respuesta directa a la hipercolesterolemia. El macrófago estimulador de colonias induce a los monocitos a integrar la placa para diferenciarse en macrófagos; este paso es crítico para el desarrollo de arteriosclerosis (Smith et al 1995) y se asocia con la regulación del reconocimiento de receptores para la inmunidad innata incluyendo los receptores basurero y los "Toll-like". Los receptores basureros fagocitan moléculas y partículas patógenas. Si el colesterol no puede ser movilizado de la célula se acumula en gotas citosólicas y finalmente se transforman en células espumosas. Los receptores Toll-like, además de la función basurero, pueden iniciar una cascada de reacciones que llevan a la activación celular.

Actualmente la arteriosclerosis es considerada una enfermedad inflamatoria, no sólo una acumulación de lípidos en la pared arterial; de hecho la enfermedad cardiovascular sigue siendo la principal causa de muerte en el mundo occidental a pesar de los cambios en el estilo de vida. El hecho de que las lesiones arterioscleróticas presenten una serie de respuestas específicas moleculares y celulares hace que se describan como una respuesta inflamatoria.

En fases tempranas de la enfermedad se observa el fenómeno de remodelado vascular, objeto importante de estudio en nuestra experimentación.

Los procesos que se han involucrado en el remodelado vascular son el crecimiento alterado de las células musculares lisas vasculares (CMLV) y un incremento en la síntesis de matriz extracelular (MEC) y de moléculas de adhesión local, la apoptosis, la fibrosis, la inflamación con el aumento de genes proinflamatorios sensibles al estado redox.

Podemos hablar de dos tipos de remodelado el hipertrófico y el eutrófico (Intengan et al 2001, Schiffring 1992).

En el remodelado eutrófico, los diámetros externo e interno están reducidos, el área de la capa media no está afectada y la relación pared:luz está aumentada sin rigidez asociada.

La vasoconstricción crónica asociada a una inflamación leve favorece el depósito de colágeno, fibronectina y otros componentes de la matriz extracelular dando lugar a un remodelado de la estructura arterial con una luz pequeña y un incremento de la relación pared:luz

En el remodelado hipertrófico. La capa media crece, invadiendo la luz y dando lugar a un incremento del área de la pared y de la proporción pared:luz, la cual está aumentada. El aumento del crecimiento es el mecanismo clásicamente implicado en este remodelado.

2.2.- PATOGENIA DE LA ARTERIOSCLEROSIS Y LA GLOMERULOESCLEROSIS.

Hay una evidencia reciente de los lazos entre arteriosclerosis y enfermedad renal progresiva que en parte se justifica por la acelerada mortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad renal (Scoble 1999; Grone et al 1994 y Keane et al 1988).

La dislipemia contribuye al grado de progresión de la arteriosclerosis y la enfermedad renal crónica. También la enfermedad renal crónica conduce al desarrollo de anomalías secundarias en el metabolismo lipídico que contribuye a aumentar la mortalidad y morbilidad cardiovascular (Göran, 2005).

Además la comprensión de la patogenia del daño de los vasos en la arteriosclerosis nos lleva al conocimiento de mecanismos que permiten saber que el daño renal, así como la hiperlipidemia, acelera la tasa de glomeruloesclerosis y la reducción de los niveles lipídicos revierten este efecto (Kasiske et al, 1988; Kees-Folts and Diamond, 1993; Joles et al, 2000 y Domínguez et al 2000).

a.-En los vasos sanguíneos encontramos paredes que se vuelven escleróticas, lípidos circulantes adheridos a moléculas de la matriz extracelular (Heinecke et al 1991) donde sufren oxidación (Chait et al 1994). Este proceso se desarrolla en presencia de elevados niveles lipídicos en plasma. Los macrófagos fagocitan los lípidos oxidados y sufren una transición a células lipídicas. Las células lipídicas o células espumosas derivadas de los macrófagos liberan citoquinas y reclutan más

macrófagos para la lesión y aumentan la deposición lipídica así como las funciones de las células endoteliales y la proliferación de las células musculares lisas (de Winther y Hofkerr, 2000). Eventualmente las células musculares lisas también se transforman en células musculares lipídicas. La acumulación intracelular de colesterol y triglicéridos pueden alterar las respuestas de las células musculares lisas a los estímulos inflamatorios y permitir la acumulación de matriz extracelular (Li et al 1995; Bayes-Genis et al 2000).

b.-Las células del glomérulo imitan algunas de estas características de las paredes de los vasos arterioescleróticos (Wheeler 1993). Así, mecanismos patogénicos similares pueden contribuir a la progresión de arteriosclerosis y enfermedad renal crónica.

La glomeruloesclerosis puede clasificarse como una extensión del proceso arteriosclerótico en el capilar glomerular y se caracteriza por una acumulación de células espumosas ricas en lípidos en el mesangio y la exagerada expansión de la matriz mesangial resulta en los cambios en la estructura y en la integridad funcional del glomérulo. (Diamond y Karnovsky, 1991).

El remodelado glomerular, es decir el recambio de la matriz y de las células, es un proceso permanente incluso en el riñón normal. En el glomérulo, dos tipos celulares, las células mesangiales y las endoteliales tienen un recambio relativamente alto y por tanto una alta capacidad de regeneración tras el daño. (Floege, 2002).

La infiltración de los capilares glomerulares por monocitos y macrófagos y su interacción con las células glomerulares, lleva a la

proliferación de células endoteliales y mesangiales y a la síntesis de matriz extracelular.

Las células mesangiales se transforman en respuesta al daño de células maduras a mesangioblastos (miofibroblastos embrionarios) caracterizados por la proliferación y la expresión de marcadores citoesqueléticos α -actina de músculo liso (α -SMA). El mesangio libera colágeno I y II que no se detecta normalmente en el glomérulo sano y está sobreexpresado en el glomérulo enfermo (Nahas, 2003)

La principal relación entre hiperlipidemia y enfermedad glomerular se deriva principalmente de modelos experimentales de arteriosclerosis entre los cuales son muy abundantes los trabajos de investigación realizados sobre los mecanismos de daño renal provocados por las dislipemias en ratas, pero son escasos los estudios en aves a pesar de las características de idoneidad para reproducir la lesión arteriosclerótica que presentan estos animales.

2.3.- SEMEJANZA ENTRE ARTERIOSCLEROSIS Y GLOMERULOESCLEROSIS

Dada la importancia patobiológica de los lípidos y lipoproteínas aterogénicas en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular arteriosclerótica y teniendo en cuenta que en pacientes con arteriosclerosis y enfermedad renal se ven frecuentemente anomalías en lípidos y lipoproteínas, se han establecido consensos entre los investigadores ligando a esas dos enfermedades dependiendo, en parte,

de anomalías en el metabolismo de las lipoproteínas (Moorhead et al, 1982; Kamanna et al, 1993).

Se ha propuesto que eventos vasculares similares a los inducidos por lípidos como los de los grandes vasos pueden participar en enfermedades de la microvasculatura glomerular. Estudios en humanos y en animales de experimentación sugieren de forma sólida que muchas de las características bioquímicas e histológicas que acompañan a la glomeruloesclerosis son similares a las observadas en la arteriosclerosis (Grond et al, 1986; Avram, 1989).

Los eventos celulares comunes incluyen:

- a.-Los depósitos de lípidos, LDL, y LDL oxidado en placas arterioscleróticas y glomeruloesclerosis.
- b.-El influjo de monocitos en la arteria en arteriosclerosis y en el glomérulo en glomeruloesclerosis.
- c.-La formación y acúmulos de células lipídicas espumosas en ambas lesiones.
- d.-La proliferación de células musculares lisas en arteriosclerosis y células mesangiales en glomeruloesclerosis.
- e.-La expansión de la matriz extracelular (Diamond y Karnovsky, 1991; Kamanna et al, 1993).

De esto se deduce que la glomeruloesclerosis puede ser clasificada como una extensión del proceso arterioesclerótico en el capilar glomerular y se caracteriza por una acumulación de células ricas en lípidos similares a las células espumosas en el mesangio y a la exagerada

expansión de la matriz mesangial como resultado de las alteraciones en la estructura e integridad funcional de los glomérulos.

El concepto propuesto de que incluso las lesiones glomerulares avanzadas son potencialmente reversibles, apunta al potencial del remodelado glomerular. Adamczak et al en 2003 demuestran, en ratas parcialmente nefrectomizadas, la reversibilidad de la glomeruloesclerosis después de un tratamiento a base de enalapril a altas dosis. Este estudio confirma la teoría del remodelado glomerular que también implica a la parte vascular y túbulo intersticial. En su estudio observaron una rápida reducción del volumen glomerular; esto se interpretó como que en fases iniciales de glomeruloesclerosis se encuentra una relación proporcional entre índice de glomeruloesclerosis y volumen glomerular. En fases avanzadas tiende a encoger el glomérulo y el volumen glomerular. Postulan que en las ratas tratadas con enalapril el volumen glomerular disminuye y en las no tratadas aumenta. Esto afianza la teoría del remodelado.

2.4.-ESCALA DE DAÑO GLOMERULAR EN GLOMERULOESCLEROSIS

Son varios los investigadores que han descrito los cambios observados en el riñón durante el proceso de glomeruloesclerosis a lo largo de los años, exponemos por tanto varias de las escalas de daño glomerular que van a servirnos de ejemplo para nuestro experimento.

2.4.1.- Nahass et al (1991): Estos autores establecen una escala de daño renal sobre un modelo de ratas Wistar y Dwarf:

Grado 1: Se describe un comienzo de la expansión glomerular con engrosamiento de la membrana basal y la luz de los capilares empieza a ser irregular.

Grado 2: Se observa hialinosis o esclerosis segmentaria la cual implica a menos del 50% del glomérulo.

Grado 3: En este estadio se puede apreciar esclerosis o hialinosis difusa que implica a más del 50% del glomérulo.

Grado 4: Es la fase de glomeruloesclerosis difusa con obliteración y colapso glomerular total.

2.4.2.-Gassler et al (1998). Estos investigadores estudiaron el desarrollo de la glomeruloesclerosis basándose en un modelo de ratones blc-2 knockout. Posteriormente describieron una escala de daño glomerular que estimaron según las siguientes características.

Grado 1: Se puede apreciar el glomérulo sano, sin cambios destacables en su morfología.

Grado 2: Cambios moderados. En estos glomérulos se puede observar:

- a.-Aumento de la matriz mesangial.
- b.-Engrosamiento de la membrana basal glomerular.
- c.-Podocitos con pseudoquistes.
- d.-Borramiento de pedicelos.

e.-Podocitos binucleados.

f.-Células glomerulares con gotas absorbidas.

g.-Células parietales y epiteliales con absorción de gotitas y/o pseudoquistes.

Grupo 3: Cambios avanzados. Se observan los glomérulos escleróticos. Se caracterizan porque:

a.-El glomérulo presenta un colapso segmental o casi global .

b.-Se observa una degeneración vacuolar de podocitos y células epiteliales parietales.

c.-Desaparición del espacio urinario.

d.-En la fase final los glomérulos no escleróticos (escasos) se encuentran muy hipertrofiados.

2.4.3.-Boffa et al (2003). Esta escala se basa en estudiar la esclerosis glomerular y el daño microvascular según los depósitos de matriz extracelular en el glomérulo

Emplearon la siguiente valoración de daño glomerular.

Grado 0: Normal, no se observa un aumento de la matriz mesangial en el glomérulo.

Grado 1: Existe 1-25% de aumento de deposición de la matriz mesangial por glomérulo con respecto al grado normal.

Grado 2: 26-50% de aumento de deposición de la matriz mesangial por glomérulo con respecto al grado normal.

Grado 3: 51-75% de aumento de deposición de la matriz mesangial por glomérulo con respecto al grado normal.

Grado 4: 76-100% de aumento de deposición de la matriz mesangial por glomérulo con respecto al grado normal.

En esta clasificación se definen las características del daño túbulo intersticial que incluyen:

- a.-Atrofia tubular focal.
- b.-Dilatación del túbulo.
- c.-Expansión intersticial con inflamación perivascular.
- d.-Engrosamiento de la membrana tubular.

Continuando con el estudio sobre el daño glomerular Noël (1999) hace una descripción de las características de los podocitos afectados durante el desarrollo de la glomeruloesclerosis.

El podocito es una célula peculiar que corresponde al epitelio visceral del glomérulo. El citoplasma cromofílico es abundante y el núcleo es claramente visible. A microscopia electrónica el podocito aparece como una célula polarizada con una pequeña membrana basal confrontada con la membrana basal glomerular y una gran parte apical-lateral que da al espacio urinario correspondiente al 90% de la superficie celular. Contiene un cuerpo celular que se divide en grandes partes que también se dividen en extensiones digitiformes. Los podocitos están sujetos a la parte mas externa de la membrana basal glomerular por sus procesos podálicos o pedicelos. Estos tienen unos grupos filamentosos bien desarrollados que forman un sistema contráctil formado por actina y miosina.

Los podocitos están implicados en varias funciones glomerulares incluyendo el recambio de la membrana basal glomerular, mantenimiento de la barrera de filtración, regulación del cociente de ultrafiltración y soporte glomerular.

La forma de respuesta de los podocitos ante un exagerado crecimiento mesangial es la hipertrofia celular, ya que estos pierden la capacidad de dividirse durante la ontogénesis y en el estado adulto son células diferenciadas. Las células multinucleadas representan una forma extrema de hipertrofia.

Los cambios observados en los podocitos ante una agresión son:

- a.-Hipertrofia celular.
- b.-Borramiento de los procesos podálicos.
- c.-Atenuación del cuerpo celular.
- d.-Formación de pseudoquistes.
- e.-Sobrecarga citoplasmática con reabsorción de gotas.
- f.-Denudación de la membrana basal glomerular.

Cuando la membrana basal está denudada, contacta con el epitelio parietal, y las células del epitelio parietal contactan con la membrana basal produciendo sinequias y finalmente esclerosis. Las células del epitelio parietal descansan en un material hialino. También se observan oclusión y colapso de capilares con inclusión de células espumosas y depósitos hialinos.

2.5.-TRABAJOS PREVIOS DE ARTERIOSCLEROSIS EN ANIMALES INTACTOS

Es una pieza clave para el estudio de la arteriosclerosis la búsqueda de modelos experimentales que asemejen en el desarrollo de la arteriosclerosis a la especie humana (Ayala et al, 2000 y 2005).

En 1908, Ignatowsky observó en aortas de conejos alimentados con una dieta rica en proteínas un engrosamiento de la íntima con formación de grandes células claras.

En 1912, Anitschkow y Chatalov obtuvieron lesiones semejantes con dietas de colesterol puro disuelto en aceite vegetal. Desde entonces el modelo de arteriosclerosis experimental mas utilizado es el conejo. Animal que no desarrolla arteriosclerosis espontánea y la que desarrolla inducida por dieta es muy variable o heterogénea.

Animales de mayor tamaño como el cerdo, el elefante y el mono desarrollan arteriosclerosis muy semejante a la humana pero debido a su dificultad de manejo coste y problemas éticos no es un buen modelo para el inicio de estudios preliminares. Por lo tanto entre los animales intactos de fácil manejo, pequeño tamaño y bajo coste, nuestro grupo de investigación utiliza el pollo.

2.6.- EL POLLO COMO ANIMAL DE ESTUDIO EN ARTERIOSCLEROSIS

Son numerosos los grupos de investigación que utilizan el pollo como animal de experimentación. Como se muestra en esta descripción cronológica.

En 1933, Fox defiende a las aves frente a las demás especies como modelo experimental.

Posteriormente Horlyck y Katz en 1949 seleccionan el pollo para la producción de arterioesclerosis experimental diseñando el primer estudio de regresión de arterioesclerosis en pollos.

Siller en 1961, mediante una dieta a partir de huevos obtiene una arteriosclerosis menos xantomatosa y más fibrosa.

En 1965, Carda Aparici y García Partida observaron que el efecto de los quelatos flavónicos-magnésicos es significativo como inhibidor de la hipercolesterolemia e hiperlipemia originadas por la administración oral de colessterina a gallinas.

En 1978, David et al concluyeron que las grasas insaturadas por si solas no producen arterioesclerosis ni protegen a los vasos de su desarrollo administradas junto con colesterol.

Fabricant et al en 1978, demostraron un incremento de la enfermedad en pollos infectados por herpes virus.

Toda et al, (1981) describieron que la combinación de testosterona y estradiol producen un empequeñecimiento de los pollos y un aumento de la mitosis y de las células musculares lisas.

Lucas et al en 1998, indujeron la arterioesclerosis en pollos mediante la injuria con balón en la aorta abdominal.

También se han empleado modelos mutantes para la investigación de la arterioesclerosis en pollos, como por ejemplo los pollos con déficit de receptores para LDL y VLDL o pollos con déficit de HDL.

El pollo, al igual que otras especies aviares, es capaz de desarrollar arteriosclerosis aórtica y coronaria de forma natural o espontánea, e inducida por una dieta enriquecida en colesterol, hecho descrito por primera vez de forma detallada por Horlyck y Katz (1949) .

La enfermedad arteriosclerótica puede aparecer de forma espontánea, debido a que el pollo presenta hipercolesterolemia de forma natural, con concentraciones plasmáticas de 200 a 350 mg/dl, la mayoría como lipoproteínas de alta densidad (Orita et al., 1994). Las lesiones arteriales aparecen en el segmento abdominal de la aorta, dónde son severas y extensas (Weiss, 1959), particularmente en su pared ventral, lo que sugiere influencias hemodinámicas en la patogenia (Texon, 1960).

Las alteraciones vasculares observadas en pollos alimentados con dietas aterogénicas afectan principalmente a la aorta torácica y no muestran diferencias esenciales con las descritas en la arteriosclerosis humana (Wong, 1975).

La similitud entre las lesiones arteriales de pollos alimentados con dietas aterogénicas y las placas arterioscleróticas humanas, el desarrollo espontáneo de la enfermedad en esta especie, su adecuado tamaño y su fácil disponibilidad y manejo en condiciones experimentales, hacen de

este modelo un modelo ideal para llevar a cabo estudios sobre la arteriosclerosis.

Wong (1975) resume, a partir de evidencias experimentales, las ventajas del pollo como biomodelo de arteriosclerosis:

- a.- Animal omnívoro.
- b.- De bajo coste y de fácil manejo para la investigación prolongada.
- c.- Capaz de desarrollar arteriosclerosis espontánea.
- d.- Capaz de desarrollar arteriosclerosis con dietas hipercolesterolémicas con un ligero pero significativo incremento del colesterol plasmático.
- e.- Los niveles plasmáticos de colesterol y triglicéridos son similares a los de humanos.
- f.- La composición de las lipoproteínas HDL y LDL y de quilomicrones es similar a la de humanos.
- g.- No hay diferencias entre las lesiones desarrolladas en pollos y las de humanos.
- h.- A esto podríamos añadir que son animales bípedos, lo que afecta a la distribución de las lesiones, e hipertensos por naturaleza.

Estas condiciones, junto al menor tiempo necesario para la regresión de las lesiones, hace que este animal sea más adecuado para este tipo de estudios que el conejo. Sin olvidar la importancia del ratón transgénico deficiente en apo E como modelo para estudios, defendido por St Clair en 1998.

2.7.- EXPERIENCIA EN NUESTRO GRUPO DE TRABAJO.

Los estudios de Valdés et al (1976) en pollos alimentados con dieta aterogénica han sido razón de numerosas publicaciones realizando análisis cuantitativos séricos de niveles lipídicos y estudios morfológicos en aorta, comparándolos con grupos control. Se ha establecido una correlación directamente proporcional y significativa entre los niveles de colesterol sérico y la ateromatosis aórtica. Así como el estudio de los datos bioquímicos del perfil lipídico se correlacionan entre ellos, con un carácter progresivo y autónomo, aumentando con el tiempo de experimentación. También destaca, que la distribución y gravedad de la arteriosclerosis producida por huevos y la espontánea son distintas.

Otro de nuestros investigadores, García Pérez (1992) realizó un estudio en pollos alimentados con huevos *ad libitum* desarrollando en 8 semanas un área sudanófila por planimetría del 67.2% y realiza el primer ensayo terapéutico con calcioantagonistas en pollos comparando por primera vez a los tres grupos principales de calcioantagonistas (verapamil, diltiazem y nifedipino) por vía oral a dosis clínicas y diez veces superiores a las clínicas y sólo a dosis clínicas a las aves tratadas con nifedipino. Coincide con los trabajos previos realizados por Catapano (1997) en conejos en que esta acción es independiente de los niveles de triglicéridos, de colesterol total y de lipoproteínas (LDL y HDL).

En los grupos tratados con los fármacos se pudo comprobar que los pollos alimentados con huevos eran un buen modelo de

experimentación en arteriosclerosis y que los tres antagonistas del calcio utilizados producían una disminución de los niveles lipídicos en sangre y en aorta con una disminución en la extensión de las placas arteriosclerosas, tanto macroscópicamente como microscópicamente. El fármaco que mejor efecto antiarterioscleroso tuvo con dosis clínicas fue el nifedipino, que aunque no produjo descenso de los niveles de lípidos séricos respecto al grupo control aterogénico, sí produjo sin embargo una reducción de placa de arteriosclerosis del 31 % y 38 % a dosis de 3 y 30 mg/Kg. respecto al grupo control aterogénico, y una disminución del calcio en aorta del 74 % a dosis de 30 mg/Kg, y del colesterol en aorta de 24 y 27 % respecto al grupo control aterogénico.

Ortega (2002) en su tesis doctoral reproduce un modelo experimental de pollos alimentados con huevos y concluye que:

- a.-La dieta con huevos es un modelo útil para estudiar la aterosclerosis
- b.- La placa de ateroma disminuye significativamente en los pollos tratados con atorvastatina
- c.- La atorvastatina no produce afectación hepática ni muscular
- d.- Macroscópicamente eran iguales los hígados el grupo control, sano, y el grupo tratado con estatinas

Ayala et al (2003) en su artículo sobre el uso del pollo como animal de experimentación sintetizan cronológicamente el uso del pollo como animal de experimentación en arteriosclerosis.

Posteriormente los mismos autores (Ayala et al, 2004) publican un estudio comparativo de diversos métodos de inducción de aterogénesis

experimental en pollos concluyendo que resulta mas conveniente de cara a conseguir resultados uniformes el uso de colesterol puro añadido a una dieta estándar que la mezcla a base de huevo. Por otro lado debe utilizarse un vehículo como el aceite de palma líquido para facilitar la absorción del colesterol a nivel digestivo y suministrar la mezcla ad libitum. Así se consiguieron niveles significativamente altos de colesterol (superando los 1000 mg/dl) de colesterol en sangre y claras lesiones arterioscleróticas.

Ortega et al (2004) sintetizan las experiencias en el uso de las estatinas en modelos animales.

Martín-Castillo et al (2005) realizan una evaluación macroscópica y microscópica del efecto de la atorvastatina sobre la progresión-regresión de la esteatosis hepática en un modelo aviar.

García-Pérez et al (2005) estudian los efectos del nifedipino, verapamil y diltiazem en los parámetros bioquímicos séricos y composición de la aorta de pollos arterioscleróticos.

3.- HIPERLIPEMIA Y ENFERMEDAD RENAL

3.1 BREVE PERFIL HISTÓRICO

Históricamente, la asociación entre anomalías lipídicas y la patogénesis de la enfermedad renal fue sugerida por primera vez en 1860 por Virchow cuando describió los grandes cambios en tejidos renales con acúmulos grasos de autopsias obtenidas de pacientes con enfermedad de Bright`s.

En 1916 Munk observó depósitos lipídicos similares en el riñón de pacientes jóvenes con síndrome nefrótico y acuñó el término nefrosis lipoidea, para remarcar lo que parecía ser una asociación única entre las anomalías lipídicas a nivel sistémico y la patogénesis de enfermedad renal en pacientes con proteinuria en rango nefrótico.

En años posteriores los investigadores también observaron depósitos lipídicos en los túbulos, vasos y glomérulos de los pacientes con nefropatía diabética. (Kimmelstiel y Wilson, 1936; Newburger y Peters, 1939).

La significativa acumulación de lípidos en el glomérulo, sugirió en otra línea de investigación que la combinación de hiperlipidemia y presión glomerular elevada podría contribuir a la gran expansión mesangial descrita en la nefropatía diabética establecida (Wilens y Elster, 1951).

Además la posibilidad de anomalías en el metabolismo lipoproteico como importante factor patobiológico en el desarrollo de la

enfermedad renal se demostró en pacientes con déficit de lecitincolesterolaciltransferasa (LCAT), una enzima asociada con la esterificación de HDL-colesterol y transferencia de ésteres de colesterol a LDL y VLDL (Hovig y Gjone, 1974; Ohta et al, 1986).

Estos pacientes manifestaron múltiples anomalías lipoproteicas, tenían una composición anormal de lipoproteínas y eventualmente desarrollaron enfermedad renal con proteinuria, glomerulosclerosis y fallo renal progresivo.

Aunque los intereses clínicos en esta área se han extendido varias décadas, sólo recientemente los esfuerzos investigadores se han dirigido directamente a entender la nefrotoxicidad de los lípidos y la identificación y el manejo de la hiperlipidemia en pacientes con enfermedad renal (Moorhead et al, 1982; Keane et al, 1988).

Scribner et al (1974) acuñaron el término “ateroma acelerado” para describir la condición que causa un gran número de muertes por arteriosclerosis en uremia terminal. Más del 50% de las muertes en uremia crónica están relacionadas con enfermedad cardiovascular.

3.2.-MECANISMOS BIOQUÍMICOS DE LA HIPERLIPEMIA EN ENFERMEDAD RENAL

El significado de células espumosas en el riñón y su relación con la enfermedad renal progresiva son un tema de creciente interés (Stude et al 1995). Zager et al han descrito los detalles de las alteraciones en los

lípidos intracelulares en las células de los túbulos proximales siguiendo al daño isquémico (Zager et al, 2001 y Zager et al 2002). El aumento de los niveles de colesterol libre y ésteres de colesterol, lo que en parte es debido al aumento de HMG CoA R, conducen la síntesis del colesterol y aumentan la circulación de colesterol en vesículas (Zager 2002).

Cuando la acumulación de colesterol se previene mediante el tratamiento con inhibidores de la HMG CoA R la citoprotección de la isquemia recurrente, que normalmente se desarrolla en células que sobreviven, se pierde. Este dato argumenta que en un corto periodo de tiempo, la acumulación lipídica en respuesta al daño isquémico tiene un efecto protector.

Este fenómeno no se limita al daño isquémico, Johnson et al (2003) demostraron que la acumulación lipídica se desarrolla en los glomérulos y túbulos proximales en dos modelos animales de glomerulonefritis. La acumulación lipídica se relacionó en esos modelos con disminución de los niveles de SR-B1 (Receptor scavenger o basurero) y aumento de la HMGCo-AR. (Hidroximetilglutaril coenzima A reductasa)

La acumulación de lípidos intracelulares que sigue al daño puede ser crucial para la supervivencia de las células y cuando esto persiste en presencia del estímulo inflamatorio crónico se da la desadaptación y se contribuye a que continúe el daño.

Johnson et al describieron en 2003 la respuesta anormal en las células específicas del riñón: La hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia se asocian con daños severos a los podocitos que lleva secundariamente a esclerosis mesangial. Aunque estos descubrimientos son notorios se

conoce poco sobre los efectos específicos de los lípidos en los podocitos.

La mayoría de los trabajos sobre el riñón, demuestran que las células mesangiales metabolizan los lípidos y responden a la LDL (Lipoproteína de baja densidad) oxidada de forma similar a las células musculares lisas de vasculares (VSMC).

El contenido lipídico intracelular es regulado por la tasa de lípidos circulantes. La LDL rica en colesterol es recogida por el receptor LDL el cual cuando la tasa de lípidos crece es regulado a la baja. Este feedback negativo sirve para mantener constante el contenido de colesterol intracelular. LDL modificada y LDL oxidada son recogidas por SR-A y SR-B1 y CD36 (SR-BII).

Tras unirse a SR-A1, la LDL oxidada sufre endocitosis. El ester de colesterol es hidrolizado en lisosomas y producen colesterol libre que puede ser tóxico para las células cuando los niveles están elevados.

CD36 tiene una afinidad alta por la LDL que ha sufrido mieloperoxidación, lo que es típico de estados inflamatorios y diabetes (De Winter 2000). Su expresión está regulada de forma positiva por la LDL oxidada y el colesterol intracelular lo que lleva a una progresiva acumulación lipídica (Han 1999). Esto está aumentado por los ligandos para el receptor PPAR- γ , (Factor de transcripción) incluyendo LDL oxidada, prostaglandina E. El factor de crecimiento beta reduce CD36 por fosforilación e inactivación de los (PPAR- γ).

La síntesis intracelular de lípidos está estimulada por varios factores que activan SREBP (factores de transcripción sensibles a esteroides) que se unen al elemento de respuesta a esteroides (SER)

situado en la región promotora del gen del receptor LDL provocando un incremento en su expresión. El aumento en la expresión de los SREBP lleva al aumento en la expresión de colesterol y en la síntesis de ácidos grasos y al aumento en contenido de colesterol y triglicéridos. Cuando los lípidos intracelulares aumentan se suprime la transcripción de SREPB lo que lleva a normalizar los niveles lipídicos. Una de las enzimas claves en la vía de colesterol es la HMGCo-A R. Cuando los niveles intracelulares de colesterol aumentan, la actividad de esta enzima disminuye para prevenir toxicidad por acumulación progresiva de colesterol.

La reducción del contenido de colesterol intracelular provocado por la inhibición de la HMGCoAR conduce a la activación de los SREBP que se unen al SER situado en la región promotora del gen del receptor LDL provocando un incremento de su expresión. Como consecuencia se produce una mayor captación de LDL circulante y de sus precursores y disminuyen los valores plasmáticos de colesterol (Brown 1996).

Ruan et al en 2001 demostraron la disregulación del receptor mesangial de LDL por citoquinas inflamatorias como son el TNF- α , (Factor de necrosis tumoral α) e interleukina 1 beta (IL-1 β) los cuales aumentan los SREBP-1 lo que activa la expresión de receptores de LDL. Este incremento no se puede compensar de manera normal por la acumulación intracelular de colesterol lo que tiene graves implicaciones para la progresión de la enfermedad.

Las citoquinas inflamatorias incluyendo a la IL-1 β , también inducen la acumulación intracelular de lípidos mediante el aumento de la expresión de SRA que recoge LDL oxidada.

Esto podría prevenirse por PPAR- γ agonistas los cuales protegen de la acumulación intracelular de lípidos inducida por IL-1 β activando la vía de aflujo de colesterol (Ruan et al 2003)

Lynn et al (2000) y Massy et al (2000). Postulan que la activación de CD36 induce a la expresión de citoquinas e IL-6 lo que es un estímulo muy potente para la esclerosis mesangial. VLDL estimula a las células mesangiales para expresar a las proteínas quimioatrayentes de monocitos. También se estimula la producción de proteínas quimioatrayentes de macrófagos, esta atrae a los macrófagos que infiltran al glomérulo y se convierten en células espumosas (Hattory et al 1999). Así se liberan citoquinas que estimulan las células mesangiales y hay más proliferación de matriz extracelular.

La LDL oxidada induce a las células mesangiales a producir colágeno I, II y IV (Lee et al 1999) también expresa SRA que es estimulado por la angiotensina II (Ruan et al 1999) Esto explicaría en parte por qué los inhibidores de angiotensina II retardan la fibrosis en el riñón . LDL y la LDL mínimamente modificada son potentes estimuladores de la proliferación de células mesangiales.

Keane (2000) relaciona dos desórdenes lipídicos primarios con la enfermedad renal. Pacientes con déficit de lecitin-colesterol acyl transferasa desarrollan grandes lipoproteínas cargadas de lípidos, depósitos lipídicos glomerulares y ocasionalmente fallo renal relacionado con glomeruloesclerosis. Otros son los pacientes con anomalías en la apolipoproteína E relacionada con una forma de enfermedad renal. La apolipoproteína E retira partículas de la apolipoproteína B por endocitosis

mediada por receptores. Anormalidades en esta función produciría enfermedad micro y macrovascular.

De este modo el glomérulo comparte muchas características con otros vasos sanguíneos como la susceptibilidad a la infiltración por macrófagos, la conversión en células espumosas y la liberación de citoquinas que contribuyen a perpetuar la injuria vascular.

Nöel (1999) describe que el daño inferido a los podocitos es reversible sólo mientras no sea dañada y denudada la membrana basal glomerular.

En conclusión, bajo condiciones normales el contenido intracelular de colesterol, ácidos grasos y fosfolípidos está fuertemente regulado. Los lípidos son esenciales para la integridad estructural de la célula y para las señales de las cascadas de transducción. A continuación del daño agudo a la célula, el acumulo de colesterol y triglicéridos podría proteger a la célula del daño adicional, Cuando el estímulo inflamatorio persiste la acumulación de lípidos empeora, las células espumosas se desarrollan lo que libera citoquinas y perpetúan la acumulación lipídica. Este proceso se acelera cuando se elevan los niveles lipídicos circulantes. En respuesta a la formación de células espumosas, se secreta matriz extracelular en exceso que contribuye a la glomeruloesclerosis; este proceso es semejante al que se da en la génesis de la arteriosclerosis.

3.3.-ESTUDIOS IN VITRO

Las descripciones *in vitro* de la enfermedad se basan en estudios en animales y humanos que demuestran la acumulación de células espumosas en riñones enfermos (Nöel 1999).

También los estudios muestran que elevados niveles de lípidos aceleran la progresión de la enfermedad, que mejora al bajar los lípidos circulantes o prevenir la acumulación de lípidos intracelulares (Oda y Keane, 1999). La complejidad de esta respuesta a los lípidos provee cambios y oportunidades para el desarrollo de intervenciones terapéuticas que pueden modificar el curso de la enfermedad renal progresiva.

Lynn et al (2000) aislaron células del mesangio de ratas para estudiar la capacidad de VLDL para estimular la expresión de proteína-1 que atrae monocitos y la consecuente adhesión de monocitos. Concluyeron que esto contribuye a la infiltración de monocitos en el mesangio y a la formación de células espumosas, lo que puede jugar un importante papel en la patogénesis de glomeruloesclerosis.

Ruan et al (2003) en sus ensayos de intervención en cultivos celulares humanos estudiaron que la activación de los receptores de proliferación de peroxisomas pueden tener un efecto protector sobre las células mesangiales y el daño que la inflamación mediada por lípidos hace al glomérulo.

3.4.-ESTUDIOS SOBRE HIPERLIPEMIA Y AFECTACIÓN RENAL EN ANIMALES

Estudios en diversos modelos de ratas han demostrado que la hipercolesterolemia acelera la tasa de progresión de la enfermedad renal. En los estudios en animales intactos encontramos descriptivos o de regresión tras la retirada de la dieta con mejoría y otros como es el de Lu et al (2003) de intervención con dietas ricas en aceite de pescado. También existen estudios de intervención farmacológica que pasamos a enumerar.

3.4.1-Estudios de progresión en animales sin intervención farmacológica.

French et al., (1967); Diamond y Kovsky, (1987); Al-Shebeb et al., (1988) Groene et al., (1989) Indujeron mediante dietas ricas en colesterol arteriosclerosis de forma acelerada en herbívoros y observaron el consiguiente daño glomerular.

Goldstein et al (1983) y Raij et al (1988) empleando como modelo la raza de conejo Watanabe, hiperlipidémica. Describieron el desarrollo de lesiones masivas arterioscleróticas pero no glomeruloesclerosis.

Kasiske et al (1985) y Kammana y Kiserbauch (1993) estudiaron la rata obesa Zucker, una variante genética que presenta hiperlipidemia

endógena, proteinuria, expansión mesangial y la consecuente formación de glomeruloesclerosis.

Kamma et al, (1993) documentaron en ratas alimentadas con dieta hiperlipémica el influjo de macrófagos, la hipertrofia glomerular, la formación de células espumosas y la proliferación de la matriz mesangial.

Los estudios de Lavaud et al (1996) llegaron a la conclusión de que la mayor similitud entre arteriosclerosis y formación de células espumosas viene de estudios que demuestran que el influjo de macrófagos precede a la glomeruloesclerosis en ratas zucker.

Eddy (1996) estudia el efecto de una dieta rica en colesterol en ratas uninefrectomizadas; se encontraron depósitos de lípidos en el glomérulo, proteinuria y reactividad a TGF- β (.Factor transformador de crecimiento).

Kasike (1998) concluye que las ratas zucker tienen glomeruloesclerosis evidente y cuando se reduce la hipertrigliceridemia el daño glomerular se reduce también así como el tamaño glomerular.

Gassler et al (1998) describen la glomeruloesclerosis en la rata knockout y desarrolla una escala de daño glomerular.

Hattori et al en 1999 demostró en ratas Ex HC que con una dieta alta en colesterol se inducía la respuesta inflamatoria en los glomérulos con la producción de sustancias quimiotácticas para macrófagos y moléculas de adhesión con la consiguiente infiltración de macrófagos y formación de células espumosas en ratas.

Stevenson y Kaisen (1999) estudian en ratas Zucker el daño glomerular inducido por hipertrigliceridemia.

En ratas analbuminemicas y ovariectomizadas, Joles et al (2000) manipularon independientemente los niveles de colesterol y triglicéridos. Ambos hipercolesterolemia y hipertrigliceridemia se asociaron con importante daño en los podocitos, proteinuria y daño intersticial, aunque los cambios mesangiales no fueron muy importantes en este modelo. Realizaron ensayos de progresión de daño renal y tras realizar nefrectomía a uno de los grupos. Postularon que el daño renal inicial se produce en los podocitos y posteriormente se desarrolla la activación de las células tubulointersticiales.

Dominguez et al (2000) estudiaron la hipótesis de que la nefropatía inducida por lípidos causa daño renal avanzado en ratas con diabetes mellitus tipo II y dislipemia y con dietas hiperproteicas y altas en grasas. Se hicieron correlaciones entre los modelos de grado de daño glomerular intersticial y vascular con marcadores de glicoxilación y lipoxidación. El desarrollo de glomeruloesclerosis y fibrosis intersticial dependía de la lipoxidación, sin hipercolesterolemia; la glicoxidación por si sola no era nefrotóxica.

Lambert et al (2001) realizaron un análisis de la afectación glomerular, y arterial en los ratones con déficit en lecitincolesterol aciltransferasa alimentados con dieta rica en grasa y. desarrollo de la glomeruloesclerosis.

Maddox et al (2002) evidenciaron el papel específico de los lípidos en un estudio de restricción alimenticia en ratas Zucker (obesas e

hiperfágicas). Demostraron que la restricción de comida tenía un importante efecto en la prevención del daño glomerular e hipertrofia correlacionado con la hiperfagia que induce hiperfiltración e hipertrigliceridemia.

3.4.2.-Estudios de intervención farmacológica en animales

Fried et al (2001) realizan un meta análisis de treinta ensayos controlados prospectivos examinando los efectos de agentes hipolipemiantes (estatinas en casi todos los ensayos clínicos) sobre la función renal, la proteinuria y albuminuria. Los resultados obtenidos aportaban que había una pequeña disminución en la tasa de filtración glomerular con tratamiento en comparación con los grupos control.

Vázquez-Pérez et al (2001) estudiaron el efecto de la atorvastatina sobre los glomérulos de conejos NET Zealand alimentados con colesterol 1% durante 12 semanas y comprobaron que los inhibidores del HMGC_oA previenen del daño glomerular.

Buemi et al (2001) describen el efecto de las estatinas sobre las vías de señales implicadas en la isoprenilización que juegan un papel esencial en la transducción de señales y en la activación celular. Otorga a las estatinas un papel muy importante en el tratamiento de la enfermedad renal progresiva.

Boffa et al (2003) Realizaron un estudio de progresión de fibrosis glomerular y vascular y sobre el papel de los antagonistas de angiotensina II y metaloproteinasas de la matriz.

Lu et al en 2003 estudiaron que en un modelo de enfermedad renal poliquística, una dieta alta en grasa acelera la enfermedad. Y que ésta puede ser frenada por una dieta rica en aceite de pescado (Lu et al, 2003)

En otro estudio de intervención, Adamczak et al. (2003) estudiaron el efecto de los IECAS (Inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina) al revertir la glomeruloesclerosis focal y segmentaria en ratas nefrectomizadas aportando información respecto al volumen glomerular, podocitos, células mesangiales, y endoteliales así como de vasos y espacio túbulointersticial.

Athyros et al (2004) demuestran en pacientes hiperlipidémicos en un estudio prospectivo durante tres años que la atorvastatina previene un deterioro de la función renal en individuos sanos y mejora la función renal en los que presentaban un deterioro previo.

3.5.-ESTUDIOS SOBRE HIPERLIPEMIA Y AFECTACIÓN RENAL EN HUMANOS

En los siguientes apartados se reflejan algunos de los estudios sobre hiperlipidemia y enfermedad renal realizados en humanos

Samuelsson et al (1997) realizaron un estudio prospectivo en una población de 73 adultos no diabéticos con enfermedad renal crónica

primaria; se determinaron los niveles de lípidos y apolipoproteína. En este estudio se encontró que las anomalías de las lipoproteínas características de la dislipoproteinemia se asociaban de forma significativa con la progresión de la insuficiencia renal.

Lee et al (1993) estudiaron en biopsias de humanos si la LDL estaba implicada en la patogénesis de la glomeruloesclerosis progresiva. Examinaron si la LDL oxidada estaba presente en el glomérulo de pacientes con enfermedad renal y si las células glomerulares humanas expresan NADPH oxidasa. Se comprobó la presencia de LDL oxidada en la mayoría de las lesiones de la glomeruloesclerosis y en las células mesangiales. También se sugirió que los pacientes con gran acumulación de LDL oxidada en los segmentos escleróticos del glomérulo tienen más daño que los que acumulan especialmente en las células mesangiales.

Nöel (1999) realiza estudios sobre glomeruloesclerosis focal y segmentaria y hialinosis, donde destacan las células espumosas evidenciando la relación entre lípidos y enfermedad renal progresiva.

Yorioka et al (1997) demuestran que la aféresis de lípidos reduce la proteinuria en esta enfermedad.

Yokohama et al en 1998 postulan que la adsorción de lípidos mejora la respuesta de la glomeruloesclerosis focal a los corticoides

Ruan et al (1999) estudian en cultivos de células humanas que las células mesangiales humanas pueden inducir receptores "scavengers" mediante los cuales las células pueden adquirir lípidos y convertirse en células espumosas que desarrollan glomeruloesclerosis.

En 2001, Ruan et al describen en cultivos celulares humanos que las citoquinas inflamatorias pueden modificar la regulación de LDL colesterol en las células mesangiales causando la formación de células espumosas. Esto sugiere su implicación con el daño renal inducido por lípidos.

Atchley et al (2002) describen que los complejos inmunes circulantes de LDL se dan en diabéticos con proteinuria y nefropatía y sugieren que los lípidos pueden contribuir a la progresión de la enfermedad renal a través de daño mediado por inmunocomplejos.

3.6.-EL POLLO COMO ANIMAL DE ESTUDIO EN RIÑÓN GRASO

En nuestro modelo utilizamos el pollo como animal de experimentación para el estudio de la arteriosclerosis y la patología asociada a nivel sistémico. Defendemos el uso de este animal por las razones que se explican en los capítulos anteriores (2.6).

Aunque no es muy frecuente el uso del pollo como animal de experimentación en el tema que nos ocupa, sí que se ha utilizado durante décadas como modelo en el caso del síndrome de Reye una enfermedad infantil que consiste en encefalopatía y degeneración visceral grasa.

En los pollos se describe la enfermedad grasa de hígado y riñones (FKLS) con acúmulos de lípidos en el parénquima especialmente en el túbulo contorneado distal; Wight y Shiller (1975) postulan como causa de

esto un retardo en el vertido a la sangre por el excesivo acúmulo intracelular de lípidos.

Awrich et al (1983) comparan posteriormente estas dos patologías concluyendo que a pesar de las similitudes como infiltración grasa sin evidencia de inflamación y otras parecidos a nivel de histología, son muchos los parámetros bioquímicos que diferencian a éstas dos patologías. Como las concentraciones de amonio, ALT y AST que están elevadas en el síndrome de Reye pero no en FLKS, por lo que no se le considera un modelo apropiado para el estudio del síndrome de Reye en niños.

Sin embargo en nuestros estudios sobre hiperlipidemia enfermedad renal y el uso de estatinas ha demostrado ser un modelo útil, como desarrollaremos a lo largo de esta tesis

3.7.-BREVE ANATOMÍA COMPARADA ENTRE RIÑÓN DE AVES Y MAMÍFEROS

Como se ha expuesto en capítulos anteriores el pollo posee características concretas que lo hacen idóneo como modelo para el estudio de la arteriosclerosis.

En lo que concierne al objeto de esta tesis hemos empleado el riñón de pollo para nuestro estudio. Este modelo ha demostrado su utilidad siendo necesario realizar un pequeño estudio descriptivo para comparar la morfología del riñón de las aves y los mamíferos.

En el caso de mamíferos, los riñones son dos órganos rojizos, con forma de alubia que se encuentran en el retroperitoneo de la cavidad abdominal posterior. Los riñones están divididos en corteza, parte externa de color pardo rojizo y médula, parte interna mucho más pálida. En la corteza encontramos los corpúsculos renales además de los túbulos contorneados de la nefrona, los túbulos colectores y una extensa irrigación sanguínea. Mientras que en la médula se encuentran las porciones rectas y los túbulos colectores.

En las aves, los riñones presentan un aspecto alargado, mayores proporcionalmente que los de los mamíferos. Están protegidos por la estructura ósea del synsacrum.

Islam et al (2004) han descrito las características anatómicas de los pollos White Leghorn resumiendo las características de los riñones de estos animales a los 6 meses de edad. En su descripción macroscópica dicen que tienen una división craneal, media y caudal, un color pardo y miden aproximadamente 6 cm de longitud, con forma de semiluna con un peso medio de 4 gr y un grosor de 1 cm aproximadamente. Tiene un gran número de lóbulos; cada uno de los cuales, presenta un gran componente cortical y un menor componente medular; los lóbulos drenan en una única rama ureteral.

En las aves domésticas los lóbulos renales tienen forma de pera y están formados de tejido cortical en su parte más ancha y de tejido medular en su parte cónica. Los lóbulos se sitúan en diferentes niveles; cada sección no presenta, como en el mamífero, corteza que se continúa

con la médula sino un modelo de grandes áreas corticales que frecuentemente rodean áreas de tractos medulares.

La nefrona funciona como la unidad estructural y funcional básica del riñón para producir orina. Sin embargo hay una diferencia en la distribución y en los tipos de nefronas de estas especies. También hay diferencias en los conductos excretores, pues las aves carecen de pelvis renal y vejiga (Randall y Reece, 1996).

Todas las nefronas en mamíferos y aves, están compuestas del corpúsculo renal que consiste en el glomérulo, un ovillo de capilares compuesto por diez o veinte asas rodeado de una copa epitelial de dos capas: la cápsula de Bowman en la cual la sangre que fluye a través de los capilares sufre un proceso de filtración. Los capilares glomerulares provienen de una arteriola aferente y drenan a una arteriola eferente que después se ramifican para formar una nueva red capilar que riega los túbulos renales.

En los mamíferos se identifican varios tipos de nefronas según la situación del corpúsculo renal. Así se clasifican en: corticales, yuxtamedulares o intermedias.

Una importante diferencia entre estas especies consiste en que en las aves existen dos tipos de nefronas. Las mayoritariamente corticales y más abundantes, de tipo reptiliano, carecen de asa de Henle y las de tipo mamífero que predominan en el tejido medular, son más escasas y tienen asa de Henle.

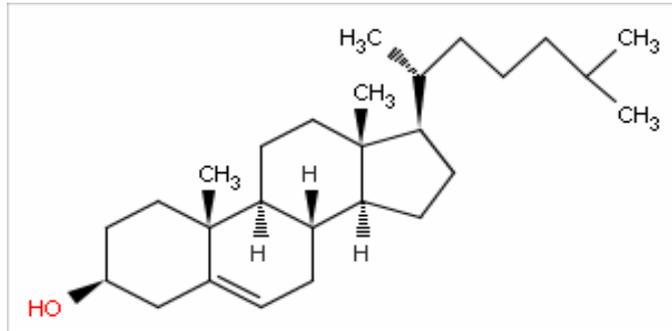
En comparación la nefrona del tipo reptiliano tiene un corpúsculo renal mucho más pequeño y un mesangio central y compacto. Las de

tipo mamífero presentan glómerulos grandes y se sitúan en la médula. Existe un tercer tipo de estructura denominada intermedia entre ambas. Por tanto los riñones de las aves, se encuentran en un punto evolutivo en el que muestran a la vez características de mamíferos y de reptiles.

En las fases tempranas de la vida de las aves domésticas, sus riñones contienen pequeños nidos de células embrionarias que desaparecen gradualmente a los 6 semanas de edad (Randall,1996).

4.- ESTATINAS

4.1.-ESTRUCTURA DEL COLESTEROL.



El colesterol es un compuesto alicíclico cuya estructura está compuesta por un núcleo ciclopentanoperhidrofenantreno con cuatro anillos fusionados, un sólo grupo hidroxilo en posición C3, un centro insaturado entre los átomos de carbono 5 y 6, un grupo metilo (denominado C-19) unido en la posición 10 y otro grupo metilo (C-18) unido a la posición 13 y una cadena hidrocarbonada ramificada de ocho carbonos unidos al anillo D en la posición 17.

Se trata de un lípido muy poco soluble en agua pero extremadamente soluble en sangre; esto se justifica por las lipoproteínas plasmáticas que poseen la capacidad de fijar y por tanto solubilizar grandes cantidades de colesterol.

Sóloamente el 30 % del colesterol circulante se presenta de forma libre, el resto (70 %) se presenta unido a las lipoproteínas en forma de ésteres de colesterol, en las que un ácido graso (normalmente el ácido linoleico) está unido al grupo hidroxilo en C3.

El colesterol puede provenir de la dieta o se sintetiza principalmente en hígado, intestino, corteza suprarrenal y tejidos reproductores.

Posee una serie de funciones que lo hacen indispensable:

- a.- Estructural como componente principal en superficies celulares y membranas celulares.
- b.- Precursor inmediato de los ácidos biliares.
- c.- Precursor de hormonas esteroideas y de hormonas sexuales.

La síntesis del colesterol puede quedar resumida en tres pasos:

El primer compuesto exclusivo de la ruta de la biosíntesis del colesterol es el ácido mevalónico, que deriva del precursor bicarbonado acetil CoA que mediante dos enzimas (acetil CoA acetiltransferasa y Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA sintasa) da origen al Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA. Desde el Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA se produce el ácido mevalónico, mediante el importante enzima microsomal Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA reductasa. Posteriormente se produce la transformación del mevalonato en escualeno finalmente se da la transformación del escualeno en colesterol.

El pool de colesterol corporal proviene de dos fuentes: la absorción del colesterol de la dieta y la biosíntesis “de novo”, principalmente en el hígado e intestino. El colesterol sintetizado “de novo” se transporta desde el hígado e intestino a los tejidos periféricos en forma de lipoproteínas (LDL y VLDL) que son ricas en Apoproteína B. La mayor parte de la Apoproteína B se secreta a la circulación en forma de VLDL que se

transforma en LDL al eliminar los componentes triglicéridos y la Apoproteína C.

El punto primario para el control de la biosíntesis de colesterol es el isoenzima citoplasmático de la Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA reductasa que es donde van a actuar las estatinas, inhibidores competitivos de dicha enzima, que tienen una estructura química similar al Hidroxi-Metil-Glutaril-CoA, sustrato principal de dicha enzima.

4.2.- MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS ESTATINAS

La modulación de la síntesis del colesterol por inhibidores específicos de la enzima 3-OH-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa o estatinas representa una de las innovaciones terapéuticas más importantes de los fármacos hipolipemiantes. Esta propiedad se debe a la similitud estructural de las estatinas con el sustrato de la enzima, el HMG-CoA. En presencia de estas, el sustrato natural es desplazado del centro catalítico de la enzima; inhibiéndose de esta manera la síntesis del colesterol. Concretamente las estatinas actúan impidiendo la transformación de HMGCóA en Mevalonato.

Debido a la sencilla estructura molecular, el HMG-CoA que se acumula, es rápidamente degradado. Así se evita la aparición de efectos secundarios, que sí se producían en otros inhibidores de la síntesis del colesterol.

La inhibición de la HMGCó-A reductasa conduce a la activación de factores de transcripción sensibles a esteroides denominados SREBP que

se unen al elemento de respuesta a esteroides (SER) situado en la región promotora del gen receptor LDL provocando un incremento en su expresión. Como consecuencia se produce una mayor captación de LDL circulante y de sus precursores y disminuyen los valores plasmáticos de colesterol. Por otra parte al disminuir la síntesis de VLDL causa una disminución en la producción hepática de LDL. Este hecho podría explicar que la atorvastatina sea capaz de reducir los valores de LDL en pacientes que presentan hipercolesterolemia familiar homocigota caracterizada por ausencia de receptores LDL funcionales. También es el principal mecanismo responsable de la reducción de los valores de triglicéridos.

Hoy en día sabemos que la inducción de la expresión de los receptores LDL, así como la propia inducción de la HMGCo-A reductasa producida tras el tratamiento con estatinas son consecuencia de la activación de la vía de los SREBP. La reducción de los valores de mevalonato producida como consecuencia de la inhibición de la HMGCo-A reductasa explica muchos de los efectos pleiotrópicos de las estatinas (Sánchez y Laguna 2003).

Las estatinas, al reducir el contenido celular de colesterol, activan de forma indirecta el procesamiento de los SREBP-2 y, como consecuencia, producen la activación transcripcional de sus genes diana como el receptor LDL, responsable de la aclaramiento plasmático de las LDL circulantes. Son muchos los genes regulados por SREBP-2 como la HMGCoA reductasa y en principio podemos considerar que todos ellos pueden ser activados tras el tratamiento con estatinas.

También tienen la propiedad de activar otros importantes factores que controlan el metabolismo lipídico y energético como los PPAR (factores de transcripción activados por ligandos que pertenecen a las superfamilias de receptores nucleares) y los mencionados SREBP. Por tanto pueden influir en numerosas acciones fisiológicas distintos tejidos.

Por otra parte la inhibición de la HMGCo-A reductasa reduce la síntesis de isoprenoides, como el farnesil pirofosfato y el geranilgeranilpirofosfato, que intervienen en la modificación postraduccional de importantes vías de señalización intracelular como Ras y Rho. La inactivación de esas proteínas es responsable de gran variedad de efectos pleiotrópicos o independientes del efecto hipolipemiante de las estatinas así como la activación de los PPAR α , que puede contribuir al notable efecto hipotriglicéridémico.

Aunque el mecanismo por el cual las estatinas previenen el daño renal es desconocido, recientes estudios sugieren que los inhibidores de la HMGCoAR pueden tener un efecto directo en los mecanismos del daño renal progresivo (Kim et al 1995); son posibles efectos preventivos de las estatinas, independientemente de su capacidad hipolipemiante, la acción sobre el balance proliferación celular/apoptosis, la producción de citoquinas inflamatorias y las vías de señalización intracelular.

4.3.-CARACTERÍSTICAS Y TIPOS DE ESTATINAS

En la actualidad existen en el mercado español cinco estatinas, lovastatina, pravastatina, simvastatina, fluvastatina y atorvastatina y dos nuevos compuestos que se encuentran en fase de investigación

pitavastatina y rosuvastatina. Lovastatina, simvastatina y pravastatina pueden considerarse compuestos de origen natural, mientras que fluvastatina y atorvastatina son compuestos completamente sintéticos.

Los estudios comparativos realizados indican que se diferencian básicamente en su potencia inhibidora de la HMGCoA reductasa y en sus propiedades farmacocinéticas (Chong et al 2001). El grado de lipofilia, la selectividad hepática y la magnitud de duración del efecto inhibidor de la HMGCoA reductasa pueden explicar los efectos particulares producidos por estatinas que no se manifiestan tras el tratamiento con otros componentes del grupo.

En la siguiente tabla se muestran los distintos tipos de estatinas utilizados actualmente y sus características farmacocinéticas

Características	Lovastatina	Pravastatina	Simvastatina	Atorvastatina	Fluvastatina
Dosis max (mg/día)	80	40	80	80	40
% reducción max LDL col	40	34	47	60	24
Reducción trig. en %	16	24	18	29	10
Aumento HDL en %	8.6	12	12	6	8
Vida media en plasma	2	2-2	1-2	14	1-2
Penetra en SNC	si	no	si	no	no
Porcentaje de excreción renal	10	20	13	2	<6
Mecanismos de metabolismo Hepático.	Citocromo P4503 A4	sulfatación	Citocromo P450 3 A4	Citocromo P450 3 A4	Citocromo P450 2 C9

Modificado de Knoop,RH. N Engl J Med. 1999; 341:498.

4.4.-EFECTOS DE LAS ESTATINAS SOBRE LA DISLIPEMIA

- a.-Inhiben la síntesis del colesterol, su acumulación y esterificación.
- b.-Inhiben la secreción de lipoproteínas y su oxidación en los macrófagos.
- c.-Estimulan la captación y la degradación tisular de las LDL.
- d.-Aumentan moderadamente el HDL-C y reducen las concentraciones séricas de triglicéridos de una forma moderada y variable.
- e.-Al bloquear la HMG-CoA reductasa, inhiben la producción de compuestos intermediarios de la síntesis del colesterol como el melavonato, el farnesil farnesiol y el geranilgeraniol. Estos últimos, denominados isoprenoides, actúan como anclaje de membrana para receptores ligados con mecanismos intracelulares de transducción de señales implicados en la proliferación celular, la producción de especies oxidantes de oxígeno, la fibrinólisis y la respuesta local inflamatoria.

4.5.-OTROS EFECTOS BENEFICIOSOS DE LAS ESTATINAS. EFECTOS PLEIOTRÓPICOS

En Algunos ensayos clínicos como el Lipid Researchs Clinics Coronary Primary Prevention Trial con colestiramina y el Helsinki Heart Study, con gemfibrocilo, propusieron la hipótesis de que la terapia hipolipemiante producía un retraso en la progresión de la placa de

ateroma e incluso su regresión. Estos sirvieron de base para posteriores estudios clínicos con estatinas los cuales demostraron beneficios clínicos importantes junto con cambios angiográficos relativamente pequeños.

Estudios en pacientes de prevención primaria (WOSCOPS, AFCAPS/TexCAPS) y de prevención secundaria (4S, CARE, LIPID, HPS) o el MIRACL (con atorvastatina) que valora recidivas tras síndromes coronarios agudos han demostrado claramente el efecto beneficioso de las estatinas sobre la morbilidad y mortalidad cardiovascular.

Estos estudios concluyen que el beneficio clínico se asocia con la reducción de colesterol de manera inversamente proporcional. En algunos estudios como el CARE o el WOSCOPS se observó una disociación entre concentraciones de colesterol y disminución de acontecimientos clínicos; esto permite especular que el beneficio clínico de las estatinas se obtiene una vez alcanzado cierto porcentaje de la reducción de LDL (20-25%) (Stamler et al 1986) y que mayores reducciones en la incidencia de eventos vasculares se logran por mecanismos independientes de una reducción de la colesterolemia; esto son los llamados efectos pleiotrópicos y los cuales abarcan un amplio espectro y afectan a numerosas funciones vasculares y sanguíneas.

Extensas investigaciones desarrolladas en las últimas décadas sugieren que aparte de una mejoría en la función endotelial (O'Driscoll et al 1997), los beneficios pleiotrópicos de estos tratamientos podría deberse además a una reducción de la trombofilia sanguínea (Dangas et al 1999) y a sus propiedades antiinflamatorias.

También se ha postulado que estas propiedades parecen resultar de la habilidad de las estatinas para inhibir la formación del mevalonato. Los productos de esta molécula incluyen no sólo el producto final, colesterol, sino también isoprenoides que son usados por los lípidos para unirse a moléculas de señales intracelulares (Takemoto y Liao 2001). La adición enzimática de los isoprenoides a proteínas intracelulares controla la actividad de diversas vías de señales, incluyendo a las de división celular y presentación de antígenos. Además los niveles bajos de colesterol en las membranas de las células expuestas a estatinas pueden interferir con el agrupamiento de Células T receptores de antígenos durante la activación inmune (Ehrenstein et al 2005).

Por otro lado, otras líneas investigadoras postulan que algunos beneficios de las estatinas pueden deberse a su actividad antiinflamatoria. Por ejemplo la atorvastatina mejora la encefalomiелitis experimental autoinmune (Youseff et al 2002), y un reciente ensayo demostró que la atorvastatina presenta efectos beneficiosos en la artritis reumatoide (McCarey et al 2004) Esto puede deberse a la capacidad de las estatinas para inhibir la activación de las células T antígeno dependiente.

Otros importantes objetivos incluyen la producción endotelial de oxido nítrico y fibrinólisis, ambos aumentados por estatinas, y la actividad plaquetaria, que está reducida (Takemoto y Liao 2001). En enfermedad arterial coronaria se ha demostrado en dos estudios que la reducción de la inflamación (reflejada en el descenso de proteína C reactiva) mejora los resultados clínicos independientemente de los descensos de colesterol (Ridker e at 2005, Nissen et al , 2005)

4.5.1.-Efecto sobre la función endotelial

El endotelio vascular representa un papel principal en la regulación de las funciones relacionadas con la pared vascular, las interacciones entre las células sanguíneas y las interrelaciones entre la pared vascular y dichas células. Se le considera un auténtico órgano de regulación vascular y sanguínea. Entre otros factores liberados por el endotelio cabe mencionar el óxido nítrico (NO), la endotelina-1 (ET-1), el tromboxano A2 (TXA2), las especies reactivas de oxígeno como los aniones superóxido y los factores de crecimiento celular, los cuales intervienen en la coagulación y en la fibrinólisis.

En las fases iniciales de la arteriosclerosis muchos de estos factores se ven comprometidos. En situaciones ambientales alteradas, como aquellas que se asocian a riesgo cardiovascular, el endotelio altera su patrón de liberación de factores vasoactivos, deja de representar su papel homeostático y pasa a ser el regulador de las alteraciones asociadas a los factores de riesgo cardiovascular. Esta situación se la conoce como disfunción endotelial y se la considera actualmente la causa principal del proceso arteriosclerótico (Haller, 1997) (Haynes,1998) (Lahera,2001), ésta se caracteriza por una reducida respuesta relajante a vasodilatadores dependientes del endotelio, lo que inicialmente sugiere una baja disponibilidad de NO. Esta es la característica principal de la disfunción endotelial, pero no la única. (Zehier AM,1993) (Chin JH,1992).

Algunos estudios describen como las estatinas actúan sobre diversos factores que están relacionados con la disfunción endotelial:

a.- Oxido Nítrico.- Lahera et al en sus experiencias con conejos hipercolesterolemicos y con dislipemia mixta han observado que el tratamiento con estatinas incrementa la relajación endotelio-dependiente producida por acetil colina en diversos territorios vasculares y mejora el tono vasomotor de las arterias en pacientes con arteriosclerosis. Una disminución de la relajación dependiente del endotelio sugiere una baja disponibilidad de NO. (Kano et al 1999) demostró en conejos arterioscleróticos tratados con estatinas que aumentaba la expresión de ARNm de la enzima NOS (oxidonitrico sintetasa) y este efecto se asociaba a una reducción de la lesión arteriosclerótica.

b.- Estrés oxidativo.-Se ha sugerido un efecto antioxidante de las estatinas basado en sus propiedades de inhibir la producción de aniones superóxido por macrófagos y células endoteliales y ciertos efectos sobre las enzimas y agentes de regulación Redox (Aviram,1992; Kagota,2000; Sumi,2001). La disminución de la producción de isoprenoides por acción de las estatinas supondría la atenuación de la isoprenilación de enzimas implicadas en la producción de especies reactivas de oxígeno y podría ser otro mecanismo por el que las estatinas podrían tener efectos antioxidantes (Inoue, 2000).

4.5.2.-Efecto sobre el remodelado vascular

Las estatinas ejercen un importante papel sobre el remodelado vascular , en 1993 Roman estudió en ratas genéticamente hipertensas tratadas con lovastatina la reducción de la relación entre el grosor de la pared y la luz en arterias preglomerulares (Roman ,1993).

Recientemente Becerra et al (2005) han demostrado como dos estatinas simvastatina y pravastatina previenen el remodelado renal en ratas SHRs (con hipertensión espontánea) disminuyendo la fibrosis.

4.5.3.-Efecto sobre la lesión aterosclerótica

La formación de la lesión aterosclerótica es un complejo proceso que se inicia con la alteración de la permeabilidad del endotelio vascular que permite la acumulación y la posterior oxidación de las LDL en la pared vascular.

Numerosos estudios experimentales han demostrado de manera evidente que las estatinas son eficaces en la reducción del tamaño de la lesión aterosclerótica.

Aragoncillo (2000) demostró que el tratamiento con atorvastatina es capaz de mantener la integridad endotelial, impidiendo además cambios en la forma y especialmente la rotura de las uniones intercelulares. Utilizó para su trabajo conejos alimentados con una dieta enriquecida con 1% de colesterol y también describió que la inhibición de la HMG-CoA reductasa redujo además de las concentraciones de colesterol el contenido lipídico en la pared vascular tanto intracelular como extracelular.

En estudios de cultivos celulares se ha observado que diversas estatinas entre ellas la atorvastatina inhiben, de manera dependiente de la dosis, la proliferación de las células musculares así como la migración de las mismas inducida por diversos factores de crecimiento (Corsini, 1996; Bellosa, 1998).

Con respecto a la reducción del tamaño de la lesión arteriosclerótica, se ha postulado que un pequeño cambio angiográfico se acompaña de importantes reducciones en acontecimientos clínicos, sugiriendo que las estatinas regulan la arteriosclerosis por mecanismos independientes de la regresión anatómica.

4.5.4.-Efectos antitrombóticos.

Es sabido que la hipercolesterolemia se asocia a una tendencia a la agregación plaquetaria y a la hipercoagulabilidad.

Badimon (1991), indujo aterosclerosis con dieta y lo trató con atorvastatina en un modelo porcino de progresión, concluyó que tanto la rotura de la placa como la trombosis subsiguiente dependen de la vulnerabilidad de la placa y de factores externos que contribuyen al desarrollo de la trombosis. Y que el tratamiento con pravastatina disminuye la deposición en la placa de ateroma. Los síntomas clínicos que siguen a la rotura de la placa dependen del tamaño y estabilidad del trombo que se forma y del grado de oclusión del lumen.

Otros estudios también han demostrado que las estatinas reducen la activación plaquetaria (Lacoste,1995) y que reducen el riesgo trombótico mediante actividad fibrinolítica (Oubiña, 2002)

Las estatinas y en particular la atorvastatina, exhiben efectos inhibitorios sobre la deposición plaquetaria en áreas de lesión arterial y, por tanto, contribuyen a reducir el riesgo aterotrombótico en pacientes con arteriosclerosis y factores de riesgo.

4.5.5.-Efecto antiinflamatorio

La arteriosclerosis se describe en la actualidad como un proceso inflamatorio en el que participan diferentes componentes implicados en la respuesta inflamatoria crónica: reclutamiento celular, proliferación celular, esclerosis y neovascularización. (Blanco Colio et al, 2003)

El incremento de las concentraciones plasmáticas de proteína C reactiva (PCR) así como su relación con la enfermedad coronaria ha sido uno de los hallazgos más significativos en los últimos diez años.

En el estudio ATOMIX en pacientes con hiperlipemia combinada la atorvastatina redujo la PCR a los 6 y 12 meses (Gómez Gerique et al 2002). En otros estudios como el ASAP (Van Winsen et al 2002) se vio que la atorvastatina reducía mas la PCR que la simvastatina. En ninguno de los casos se estableció una relación directa de la reducción de los valores lipídicos y la disminución de la PCR, lo que indica un posible efecto antiinflamatorio de la atorvastatina independientemente de su acción hipolipemiente.

La unión de los leucocitos a las moléculas de adhesión de las células endoteliales vasculares es uno de los episodios más tempranos en el proceso arteriosclerótico. La expresión de las proteínas de adhesión está incrementada en respuesta a las citoquinas inflamatorias (Hashimoto, 2001).

Dos tipos de moléculas intervienen fundamentalmente en la entrada de monocitos en la placa arteriosclerosa, las moléculas de adhesión (ICAM-1, E-selectina, VCAM-1) y los factores quimiotácticos

(MCP-1, M-CSF). El factor que más interés tiene es el MCP-1 ya que se ha demostrado su presencia en las lesiones arteriosclerosas humanas.

Al igual que juegan un importante papel en la retirada de lípidos, los macrófagos pueden ser las células responsables principalmente en la glomeruloesclerosis producida por lípidos, produciendo diferentes tipos de factores de crecimiento y citoquinas que estimulan la proliferación y la fibrosis (Keane et al, 1991). Las células mesangiales estimuladas por lípidos o citoquinas inflamatorias también producen importantes factores quimiotácticos como la MCP-1 y MCS-F que inducen la lesión de macrófagos y maduración iniciando un círculo vicioso que lleva a la glomeruloesclerosis. Se sabe que la lovastatina *in vitro* regula la producción mesangial de MCP-1, así como la producción de factor inhibidor de macrófagos MIF, PDGF endotelinas y angiotensina-2 (Kim et al 1995). También inhibe el factor nuclear NF- κ B que juega un importante papel en la respuesta inflamatoria de las células mesangiales, (Guijarro et al, 1996). Esto sugiere que las estatinas pueden regular las rutas de transducción de las señales intracelulares activadas por la inflamación.

Este podría ser uno de los mecanismos fisiopatológicos envueltos en la actividad antiproteínica de la fluvastatina en los pacientes con nefropatía por IgA con niveles de colesterol normales así se confirma que los HMG-CoAR pueden tener un efecto directo en el glomérulo (Buemi y Allegra, 2000).

Al inhibir la infiltración de monocitos, la proliferación de células mesangiales y la fibrosis intersticial las estatinas pueden inhibir la progresión de la enfermedad renal (Oda et al 1999).

4.5.6.-Efecto inmunomodulador:

Aunque los desencadenantes de la respuesta inflamatoria observada en arteriosclerosis no han sido aún completamente aclarados, se ha sugerido que los autoantígenos que se expresan en la placa aterosclerótica pueden inducir una respuesta inmune. Algunos de estos antígenos posiblemente implicados son heat-shock protein-70 (Berberian et al, 1990), otros como los epitopos oxidativos de LDL y no-LDL son más frecuentes en arterias arterioscleróticas que en arterias normales (O'Brien,1996). La presencia de linfocitos T activados en la sangre periférica y placas coronarias en pacientes con síndrome coronario agudo soporta la hipótesis de una respuesta inmune en la patogénesis de la arteriosclerosis coronaria (Van der Val et al, 1994).

Se han realizado diferentes estudios sobre los efectos de las estatinas en las funciones de las células linfoides, postulándose los siguientes efectos inmunomoduladores (Blanco-Colio et al, 2003):

- a.-Disminuyen la proliferación de linfocitos
- b.-Descenso en la actividad Natural Killer
- c.-Descenso en la histocompatibilidad de antígenos clase II
- d.-Disminuyen el rechazo de los órganos

Se continúa investigando la respuesta inmunomoduladora de las estatinas en diferentes ensayos clínicos encontrándose resultados aún discordantes, esperando nuevos datos de ensayos clínicos inconclusos.

4.5.7.-Efectos sobre la proliferación celular y la apoptosis.

En el tejido humano adulto existe una regulación perfecta entre la proliferación celular y la apoptosis o muerte celular.

Durante el curso de una nefropatía intervienen numerosos factores de crecimiento y células inflamatorias. Esto causa una rotura del balance y un incremento en la proliferación en los diferentes elementos celulares del glomérulo y también inflamación y fibrosis.

Las estatinas pueden influir en este balance previniendo la proliferación celular por un lado por la reducción en la síntesis del colesterol, que es un componente esencial de la membrana y por otro como observó Keane et al, en 1993, las células mesangiales pueden proliferar en respuesta a diferentes factores de crecimiento como PDGF, insulina, LDL, IDL y VLDL. Al añadir estatinas a cultivos celulares se inhibe la proliferación. Los inhibidores de HMG-CoAR bloquean la síntesis de colesterol y metabolitos de mevalonato incluyendo componentes requeridos para el normal crecimiento celular (Goldstein y Brown 1990).

Como reseñamos posteriormente, en estudios *in vitro* se ha demostrado que las estatinas inhiben la proliferación de células del epitelio tubular renal, células musculares lisas y células mesangiales, (O'Donnell et al, 1993).

También se han sugerido en diferentes estudios sobre cultivos celulares el efecto estimulador de las estatinas sobre la actividad apoptótica (Buemi et al 1999).

En resumen se ha sugerido que la muerte celular programada a través de la apoptosis puede ser crítica para el éxito del remodelado glomerular y la recuperación tras el daño por la inflamación (Savill et al, 1994).

4.6.-EFECTOS ADVERSOS

Se ha descrito una elevación de transaminasas en menos del 5% de los pacientes tratados. Si esto ocurre suele darse en el primer trimestre de inicio de la terapia y es dosis dependiente (Groene, 2003).

“The US food and Drug administration” en los prospectos incluye el control de la función renal antes y en las doce semanas posteriores a la administración de estatinas, y posteriormente tras cualquier aumento en la dosis. Muchas autoridades no consideran necesaria la monitorización de rutina de la función hepática excepto para identificar y monitorizar a los pacientes con enfermedades hepáticas preexistentes (Weismantel,2001; Gotto, 2003; 4S).

El daño muscular, es poco frecuente con terapias con la estatina como único hipolipemiante, con una frecuencia de 2-11% de mialgias, 0.5% de miositis y menos de un 1% de rabdomiolisis (Rosenson, 2004) (Ballantyne et al 2003). Este efecto adverso, puede ser más frecuente en el tratamiento combinado de estatinas con otros fármacos hipolipemiantes como, por ejemplo, derivados del ácido fíbrico.

Distintos estudios avalan la seguridad de las estatinas, como el análisis de datos realizado por Black et al en 1998 en el cual se administró atorvastatina a 2502 pacientes; menos del 2% fueron retirados del estudio y fue por efectos no dependientes de la medicación, de todos

ellos sólo 2 pacientes tuvieron acontecimientos graves que se pudieran relacionar con el fármaco.

4.7.-SEGURIDAD E IDONEIDAD EN EL USO DE LAS ESTATINAS EN LOS PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL

En el paciente con una nefropatía, el riesgo vascular está muy incrementado con respecto al de la población general. Las complicaciones cardiovasculares son la primera causa de mortalidad en estos pacientes. (Foley,1998)

Es un hecho que la dislipemia está presente de forma constante en los pacientes renales y es uno de los factores de riesgo vascular más importantes en ellos. La aproximación terapéutica de la dislipemia en los pacientes con nefropatía es similar a la de la población general (Castelao-Martínez, 2005)

Algunas estatinas son profármacos inactivos que se activan una vez se encuentran en el organismo. Las diferencias estructurales entre ellos les conferirán diversa potencia, eficacia y también toxicidad.

En el momento actual, las estatinas deben ser consideradas como los fármacos hipolipemiantes de primera elección en los pacientes con nefropatías (Wheeler,1998) ya que se ha demostrado su poder en la profilaxis de la enfermedad coronaria. Sin embargo, debido a que deben ser usadas prácticamente durante toda la vida es necesario utilizarlas con cautela, sobre todo en los pacientes más jóvenes.

En los estudios preliminares efectuados en los últimos años, las

estatinas han sido eficaces para corregir las anomalías del metabolismo lipídico observadas en los pacientes con insuficiencia renal crónica y síndrome nefrótico, así como en los que habían recibido un trasplante renal. No obstante, los beneficios derivados de la disminución de las concentraciones de lípidos en estos pacientes aún no se han establecido claramente.

Recientemente en el estudio alemán 4D se han mostrado los efectos de la atorvastatina (10 mg/día) en pacientes diabéticos en hemodiálisis frente a un grupo que recibió placebo. No se pudo demostrar una reducción del riesgo relativo de episodios vasculares en los pacientes tratados.

Lemos et al en 2005 en un estudio con fluvastatina demostraron que en los pacientes tratados con fluvastatina no se incrementó el riesgo coronario por causa de la insuficiencia renal.

No obstante, están en marcha numerosos estudios con estatinas en pacientes con enfermedad renal crónica y sí se han obtenido evidencias suficientes en cuanto a la eficacia y seguridad de dichos fármacos.

Como se muestra en el esquema expuesto previamente, La farmacocinética de las estatinas varía de unas a otras al depender de la vía de metabolización y del citocromo utilizado para el transporte de la estatina. Así, fluvastatina y atorvastatina no requieren ajuste de dosis, al ser mínima la eliminación por vía renal.

In vitro las estatinas inhiben la proliferación mesangial, por lo que podrían ser muy útiles en el tratamiento de nefropatías glomerulares de tipo proliferativo, Por otro lado, inhiben la citotoxicidad mediada por los linfocitos T, por lo que pueden reducir la incidencia de rechazo agudo en

tratamiento concomitante con otros inmunosupresores en el trasplante de órganos (Keane et al,1993; O'Donnell et al,1993).

En numerosos estudios realizados en animales de experimentación se muestra que la hiperlipidemia puede contribuir al desarrollo y la progresión de la lesión y que la corrección de las anomalías lipídicas mejora las lesiones renales (Keane et al, 1993).

En algunos estudios experimentales bien diseñados se ha demostrado la protección que ejercen las estatinas en la producción de lesiones renales, como en el modelo de nefropatía crónica con síndrome nefrótico por puromicina y nefrectomía subtotal. También se ha demostrado la prevención de desarrollo de lesiones glomerulares fibrosantes en la rata obesa Zucker o la Dahl hipertensa. Mediante la corrección de la dislipemia, las estatinas podrían proteger a las células renales de todos estos efectos adversos (Vaugan et al, 1996).

Los efectos no derivados estrictamente de la capacidad hipolipemiente de las estatinas podrían extenderse al tratamiento de las enfermedades renales progresivas.

Experimentalmente se ha demostrado, mediante cultivos celulares, que la división de las células mesangiales en respuesta al contacto con el suero es inhibida cuando se añade lovastatina al medio de cultivo; este efecto que se ve anulado si al medio se le añade mevalonato, el producto intermedio de la metabolización del colesterol que es inhibido por la HMGCoA reductasa.

Asimismo, las estatinas pueden inhibir la producción de factores quimiotácticos, que modulan la expresión del ARN mensajero que codifica

varios componentes de la matriz como colágeno y fibronectina. La traslación de los resultados de estos experimentos a la clínica está aún por demostrar.

Según Martínez Castela en 2005, las estatinas constituyen un grupo de fármacos muy útiles en el paciente con nefropatías evolutivas, tanto por sus efectos hipolipemiantes como por sus efectos pleiotrópicos.

Las estatinas son fármacos seguros y eficaces cuando se administran a pacientes con nefropatías evolutivas o incluso con insuficiencia renal crónica terminal. A esto hay que añadir que sus efectos adversos, en general, no son más frecuentes que en la población sin nefropatía.

El riesgo de rabdomiólisis aparece cuando se utilizan dosis elevadas o en tratamientos combinadas con otros fármacos hipolipemiantes, particularmente con derivados del ácido fíbrico. En presencia de insuficiencia renal, dicha asociación debe evitarse.

A pesar de su excelente perfil de seguridad, es aconsejable utilizar dosis bajas o medianas y no recurrir a las dosis altas. Si ello es necesario, debe vigilarse muy estrictamente la aparición de efectos adversos y controlar de manera adecuada y con frecuencia la función renal y la concentración de CK.

En pacientes con trasplante renal, las estatinas son igualmente eficaces y seguras. Se aconseja vigilar los valores de los fármacos inmunosupresores, especialmente los anticalcineurínicos. El tratamiento concomitante con dichos fármacos puede elevar la concentración de la estatina, por lo que sus efectos pueden ser más intensos. Deben evitarse las dosis altas y, en caso de que sean necesarias, deben vigilarse de

forma rigurosa la función renal y las concentraciones de los fármacos inmunosupresores.

4.8.-ESTUDIOS DE INTERVENCIÓN CON ESTATINAS EN ENFERMEDAD RENAL

4.8.1.-Estudios en cultivos celulares

Michihara et al. (2003), estudiaron en tejidos de ratones el efecto de la pravastatina en la inducción de mevalonato pirofosfato descarboxilasa.

Heusinger-Ribero et al. (2004) estudia los efectos diferenciales de la simvastatina y lovastatina en cultivos celulares de células mesangiales de ratas concluyendo que ambas presentan el mismo efecto inhibitorio sobre el factor de crecimiento del tejido conectivo y sobre la proliferación de actina.

Sidaway y Davison, (2004), estudian en cultivos celulares que las estatinas pueden inhibir la transformación de proteínas en células del túbulo proximal como consecuencias de la inhibición de HMGCo-A reductasa. Mediante alteraciones en la endocitosis de la albúmina mediada por receptores

4.8.2.-Estudios en animales intactos con estatinas.

En 1993 O'Donnell et al estudian en un modelo de ratas Zucker que la lovastatina retarda la progresión de la glomeruloesclerosis.

En 1993 Washio et al en un modelo de ratas con esclerosis glomerular inducida por adriamicina demuestran que la lovastatina como la dieta con restricción de proteínas mejoraba la excreción de proteínas, la creatinina, y la esclerosis glomerular.

En 1997 Jiang, estudia los efectos de la lovastatina en ratas con hipertensión espontánea; en su estudio se objetivó un descenso en la hipertensión y en el desarrollo de la hipertrofia renovascular.

Massy et al también estudian en 1997, los efectos beneficiosos de las estatinas sobre la progresión de la insuficiencia renal en ratas.

Buemi et al, en 2001, concluye que entre los efectos pleiotrópicos de las estatinas esta la capacidad de regular el balance proliferación/apoptosis, así como modifican la infiltración de monocitos, la proliferación mesangial, la inflamación tubulointersticial y la fibrosis.

Vázquez-Pérez et al (2001) estudiaron el efecto de la atorvastatina sobre los glomérulos de conejos New Zealand alimentados con colesterol al 1% durante 12 semanas y comprobaron que los inhibidores del HMGCoA previenen del daño glomerular; los no tratados mostraban hipertrofia glomerular, global o parcial colapso de los capilares, hialinosis, adhesión del corpúsculo mediante sinequias a la cápsula de Bowman, y fibrosis de la cápsula de Bowman. Se encontraron en muy escaso número glomérulos esclerosados. Concluyen como otros autores como Wheeler et al 1998, Oda y Keane, 1999 y Rubin 1994 que las estatinas reducen la severidad del daño glomerular y contribuyen a preservar la función en enfermedad renal.

Wilson et al en 2003, estudiaron en cerdos alimentados con una dieta hipercolesterolémica el efecto de la simvastatina, en un estudio de progresión con intervención. Los resultados demostraban que, aún en ausencia de descensos de colesterol, la simvastatina reduce la inflamación y la fibrosis en el tejido renal y aumenta la perfusión en los riñones de los cerdos alimentados con colesterol, asociada con un descenso del stress oxidativo. Esto refleja el efecto nefroprotector de los Inhibidores de la HMGco-A reductasa.

Sabbatini et al, en 2004 postulan que las estatinas en ratas ancianas con fallo renal agudo y con una gran susceptibilidad a la isquemia tienen un efecto protector contra el daño celular a nivel tubular.

Li et al, en 2005 en un modelo de ratas Sprague-Dawley, con nefropatía inducida por ciclosporina, estudió el efecto inhibitorio sobre el factor de crecimiento beta-1 inducible y los efectos de la pravastatina en la fibrosis túbulo intersticial inducida por ciclosporina, demostrando que en nefropatías crónicas inhibe la progresión de la inflamación túbulo intersticial y la fibrosis.

Casey et al en 2005, en un modelo de ratas diabéticas Sprague Dawley, mostraron que el tratamiento con pravastatina preserva la función endotelial microvascular en presencia de hiperglucemia, inhibiendo el estadio temprano de la nefropatía diabética.

Vieira et al (2005) en un nuevo modelo, esta vez sin denudación, escoge ratas Munich-Winstar tratadas con inhibidor de la oxidonítrico (ON) sintetasa L-NAME y alimentadas con dieta rica en sal, a un grupo se le administró simvastatina. En el grupo tratado se atenuó significativamente

la inflamación intersticial, así como un descenso en la expresión de MCP-1, la proliferación y la fibrosis aunque no se previno el desarrollo de hipertensión arterial severa o albuminuria.

Ese mismo año Zhu et al en 2005, estudia en ratas Sprague-Dawley el efecto de la simvastatina en ratas con diabetes inducida por streptozotocina. Se concluyó que la simvastatina puede prevenir el daño producido por el aumento de la peroxidación lipídica y el descenso en enzimas antioxidantes en la progresión de la nefropatía diabética. Simvastatina protege al riñón de la oxidación aún en ausencia de anormalidades lipídicas.

Yu y Wang en 2005, en un modelo de conejos New Zealand realiza un estudio de progresión con dieta hipercolesterolémica, administrando fluvastatina a uno de los grupos. Concluyen que este tratamiento podría prevenir el daño renal en pacientes hipercolesterolémicos y arteriosclerosis temprana a través del descenso de colesterol y los efectos pleiotrópicos previniendo la expresión del receptor de la lipoproteína de baja densidad oxidada en la arteria renal (Lox-1).

Kido et al en 2005, estudia en ratas Dahl alimentadas con dieta rica en sal el efecto de la pravastatina y sugiere que las estatinas previenen el desarrollo del daño renal por hipertensión a través de sus efectos antioxidantes. No se afectó a los niveles de HDL o LDL colesterol en sangre pero sí que descendieron los niveles de triglicéridos. También se redujo el daño renal tubular en las ratas tratadas con pravastatina y se normalizaron los niveles de glutatión en las ratas tratadas.

Blanco et al en 2005, estudiaron los efectos de las estatinas y los IECA en los podocitos de las ratas Zucker; resultó que los IECA normalizaron la proteinuria, los niveles de colesterol, las lesiones glomerulares y la morfología de los podocitos. Las estatinas mejoraron todo esto pero no llegaron a normalizarlo.

4.8.3.- ESTUDIOS CON DAÑO E INTERVENCIÓN CON ESTATINAS EN ANIMALES

Hafez et al en 1996, en un modelo de ablación renal en ratas estudian el efecto de la lovastatina sobre el deterioro de la función renal y su efecto directo, independiente del hipolipemiente sobre el incremento del flujo renal y el mantenimiento de la tasa de filtración glomerular.

Glazer et al en 1997, estudian en ratas a las que se les había practicado nefrectomía parcial (5/6) el efecto de la lovastatina. Se observó que el tratamiento con lovastatina preservaba la función renal sin encontrar un descenso en los niveles lipídicos plasmáticos y se sugirió el efecto vasoactivo de la lovastatina en la microcirculación renal.

En 1999 Jandeleit-Dahm et al en un estudio con ratas Sprague-Dawley, nefrectomizadas en 5/6 partes, demostró que el tratamiento con atorvastatina reducía la proteinuria y la glomeruloesclerosis.

Inman et al, en 2003 estudian el efecto de la simvastatina en ratas uninefrectomizadas y tratadas con ciclosporina. Demostraron la protección sobre la función renal y sus propiedades vasodilatadoras.

Song et al, en 2003, demostraron en ratas nefrectomizadas que la fluvastatina regula la expresión del RNA del factor de crecimiento del tejido conectivo y mejora la acumulación glomerular de matriz extracelular.

Afzali et al, en 2004 revisa las experiencias con estatinas en ratas y muestra que los resultados son paralelos a los obtenidos en ensayos clínicos en humanos.

Ikeuchi et al, en 2004, en un modelo de ratón con fibrosis intersticial inducida por obstrucción ureteral unilateral demuestra que la fluvastatina puede prevenir la fibrosis túbulo intersticial en un modelo de enfermedad renal progresiva, inhibiendo la proliferación de los fibroblastos y la síntesis de la matriz.

Mizuguchi et al, en 2005, demuestran que la atorvastatina mejora el daño tisular renal en un modelo de ratas a las que se la practicado obstrucción unilateral ureteral.

Inman et al en 2005 estudian en ratas Wistar nefrectomizadas el efecto de la simvastatina y L-arginina en ratas tratadas con ciclosporina. Resultó que estas preservaban más la función renal en comparación con las tratadas sólo con ciclosporina.

Vieira et al en 2005, escogen un modelo de ratas a las que se les realiza una obstrucción unilateral del uréter y se estudian tras tratamiento con simvastatina. Observaron que los riñones de las ratas tratadas con simvastatina presentaban menos inflamación, menor expresión de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1) y menor expresión de colágeno y fibronectina.

Gao et al en 2005, estudian sobre ratas Sprague Dawley uninefrectomizadas y con diabetes inducida por streptozotocina el efecto del tratamiento con IECAS y estatinas (fluvastatina); concluyeron que a pesar de no incidir en los niveles de lípidos previenen el daño tubulointersticial. Este mecanismo se justifica por su acción sobre la disminución de la expresión del factor nuclear kappa y de la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP-1).

4.8.4.-ESTUDIOS EN HUMANOS

Hay muchos ensayos que examinan la función renal y la proteinuria como puntos finales tras un tratamiento con estatinas en pacientes con daño renal.

Fried et al (2001) realizaron un meta-análisis de trece ensayos controlados prospectivos examinando los efectos de seis agentes hipolipemiantes (estatinas en casi todos los ensayos clínicos) sobre la función renal, la proteinuria y albuminuria. Los resultados obtenidos aportaban que había una pequeña disminución en la tasa de filtración glomerular con tratamiento, en comparación con los grupos control.

Sin embargo seguimientos más largos correlacionaron la cantidad de mejoría de la tasa de filtración glomerular con el tratamiento. Había una tendencia hacia el efecto favorable del tratamiento sobre la albuminuria y proteinuria. En conclusión, el control lipídico podría preservar la tasa de filtración glomerular y la proteinuria en pacientes con enfermedad renal.

Gheith et al, en 2002, demostró que la terapia con estatinas causa una reducción en los depósitos de grasa renal tras un año en los sujetos con síndrome nefrótico persistente. Aunque la esclerosis glomerular era similar en los grupos tratados con fluvastatina que en los grupos control, la fibrosis intersticial mejoraba en los sujetos que habían recibido terapia con estatinas.

Bianchi et al en 2003, realizaron un estudio prospectivo controlado usando atorvastatina comparando con grupos sin tratamiento hipolipemiente en la progresión del daño renal y la proteinuria en pacientes con enfermedad renal previa. Al año se observó una mejoría en la función renal y en la proteinuria en los grupos tratados con atorvastatina.

Kano et al en 2003, administraron a 30 niños con nefropatía por IgA, fluvastatina y tuvo importantes efectos beneficiosos sobre la proteinuria, la hematuria y los niveles de creatinina en sangre.

Athyros et al (2004) demuestran en pacientes hiperlipidémicos en un estudio prospectivo durante tres años que la atorvastatina previene un deterioro de la función renal en individuos sanos y mejora la función renal en los que presentaban un deterioro previo.

Tonelli et al, (2005) en un ensayo con pravastatina, con datos de tres ensayos controlados a doble ciego, con más de 18.500 pacientes, demostraron que la pravastatina reduce modestamente la pérdida de función renal y el riesgo de fallo renal agudo en pacientes de alto riesgo; en sujetos con enfermedad renal moderada y proteinuria había una reducción significativa en la tasa de fallo renal agudo.

Praga, en 2005 postula que los tratamientos con estatinas tienen un efecto renoprotector y reducen los niveles de proteinuria.

En el estudio CARE (Cholesterol And Recurrent Events) se estudió, en 2003, el efecto de la pravastatina vs placebo en 690 pacientes hiperlipémicos con infarto de miocardio previo. Se estudió entre otras, la función renal y se vio una mejora en el aclaramiento de creatinina en los grupos tratados con pravastatina.

En el “Heart Protection Study”, en 2003 en 20.000 pacientes con enfermedad cardiovascular y diabetes se observó el efecto en el descenso de la creatinina sérica en los grupos tratados con simvastatina, así como en la tasa de filtración glomerular.

En el estudio de prevención de enfermedad cardiovascular (GREACE) se observó el uso de la atorvastatina en 1600 pacientes con enfermedad coronaria y se midió el aclaramiento de creatinina, mostrando mayores beneficios aquellos pacientes que más bajo lo tenían.