

Efecto de la atorvastatina sobre la progresión y regresión de los depósitos grasos renales en un modelo experimental

Gracia Adánez^a, M. Teresa Castells^b, Bartolomé García Pérez^a, M. Teresa Sánchez-Polo^a, Antonia Martín Castillo^c e Ignacio Ayala^d

^aServicio de Cirugía General. Hospital Virgen de la Arrixaca. Murcia. España.

^bDepartamento de Biología Celular. Universidad de Murcia. España.

^cServicio Digestivo. Hospital Santa María del Rosell. Cartagena. Murcia. España.

^dDepartamento de Medicina y Cirugía Animal. Universidad de Murcia. España.

Introducción. Hay evidencias de la relación entre la arteriosclerosis y la enfermedad renal progresiva. Sin embargo, son escasos los estudios en humanos o animales en que se utilicen estatinas para valorar sus efectos sobre la lesión renal.

Objetivos. El objetivo de este trabajo es estudiar a escala histológica el efecto de la atorvastatina sobre los fenómenos de progresión y regresión de los depósitos grasos en el riñón en un modelo experimental.

Material y método. Para la realización de los protocolos experimentales se utilizaron 100 pollos White-Leghorn, sometidos a una dieta hiperlipémica en la fase de inducción y a diversos protocolos de dieta normal/dieta hiperlipémica y tratamiento o no con atorvastatina en la fase de intervención. Se realizó la valoración de la grasa renal mediante técnicas histológicas y análisis de imagen.

Resultados. En el grupo control sano no se observó la existencia de depósitos grasos, mientras que el grupo aterogénico presentó grandes

depósitos grasos. El grupo de regresión e intervención con atorvastatina presentó una menor presencia de grasa, lo que supuso una diferencia significativa con todos los grupos. También en el caso de este grupo, se encontró que el diámetro de la acumulación grasa es significativamente menor respecto al resto de los grupos.

Conclusiones. Nuestro modelo experimental es, para el estudio del riñón graso, un modelo homogéneo y de fácil manejo. La retirada de la dieta grasa y la administración simultánea de atorvastatina da lugar a los índices más bajos de depósitos grasos renales. La retirada por sí sola de la dieta no produce efectos tan marcados. Del estudio de diferentes parámetros se deduce que la atorvastatina acelera la regresión y frena la progresión de las acumulaciones grasas renales.

Palabras clave:

Atorvastatina. Acumulación grasa. Riñón. Pollo.

Trabajo financiado por la Fundación Séneca (Centro de Coordinación de la Investigación, Murcia, España), referencia PI-7/00785/FS/01.

Correspondencia: Dr. I. Ayala.

Departamento de Medicina y Cirugía Animal.

Facultad de Veterinaria. Universidad de Murcia.

Campus de Espinardo, s/n. 30100 Murcia. España.

Correo electrónico: iayape@um.es

Recibido el 8 de febrero de 2007 y aceptado el 12 de julio de 2007.

EFFECT OF ATORVASTATIN ON PROGRESSION/REGRESSION OF RENAL LIPID ACCUMULATION IN AN EXPERIMENTAL MODEL

Introduction. There is evidence of a relationship between atherosclerosis and progressive kidney disease. However, information on the role of statins on kidney disease in humans and animal models is lacking.

Objectives. To analyze the effect of atorvastatin on progression/regression of renal lipid

accumulation in an experimental model using histological analysis.

Material and method. We used 100 White-Leghorn chickens fed with a hyperlipemic diet (induction stage), followed by an interventional stage, in which the animals were fed a normal or hyperlipemic diet and administered atorvastatin or placebo. Assessment of renal lipid accumulation was made by histologic and imaging analyses.

Results. In the healthy control group, no intracellular renal fat deposits or accumulations were found. The atherogenic group showed substantial lipid accumulations. The intervention group with suspension of the hyperlipemic diet and atorvastatin administration showed significant differences with the remaining groups, presenting the lowest fat accumulation. This group also showed significantly lower fat accumulation diameter with respect to the remaining groups.

Conclusions. Our experimental model was useful and suitable for the study of renal fat accumulation. Hyperlipemic diet suspension and simultaneous atorvastatin therapy led to the lowest renal fat accumulation. Hyperlipemic diet suspension alone produced less pronounced results. The parameters studied indicate that atorvastatin was effective in accelerating regression of renal fat accumulation and in decreasing its progression.

Key words:
Atorvastatin. Fat accumulation. Kidney. Chicken.

Introducción

Hay evidencias de la relación entre la arteriosclerosis y la enfermedad renal progresiva, que en parte se justifican por la acelerada mortalidad cardiovascular en pacientes con enfermedad renal¹⁻³. La dislipemia contribuye al grado de progresión de la arteriosclerosis y de la enfermedad renal crónica. También la enfermedad renal crónica conduce al desarrollo de anomalías secundarias en el metabolismo lipídico que contribuyen a aumentar la mortalidad y la morbilidad cardiovascular⁴.

Así, la hipercolesterolemia y la hipertrigliceridemia, reconocidos contribuyentes a la arteriosclerosis, son también factores de riesgo emergentes para la progresión de la enfermedad renal⁵⁻⁶.

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 hiperlipemia, aceleran la tasa de glomerulosclerosis, y la reducción de los valores lipídicos reduce el daño glomerular⁷⁻¹⁰.

Se precisan, sin embargo, más evidencias que sustenten claramente la hipótesis de que la corrección de los trastornos lipídicos mejora la evolución de las nefropatías. Estudios previos en el modelo experimental que utilizamos en nuestro grupo de trabajo¹¹⁻¹⁴ –pollos alimentados con una dieta aterogénica– lo han validado como modelo para el estudio de procesos de arteriosclerosis e hígado graso. Se planteó, entonces, la idea del estudio de los efectos de esta experimentación sobre un órgano como el riñón y la posibilidad de validarla como modelo para el estudio de la glomerulosclerosis renal inducida por una dieta hiperlipémica.

Numerosos estudios han demostrado de manera evidente que las estatinas son eficaces en la reducción del tamaño de la lesión arteriosclerótica y disminuyen el colesterol plasmático o mediante sus efectos pleiotrópicos. En diversos trabajos realizados en animales de experimentación se muestra que la hiperlipemia puede contribuir al desarrollo y la progresión de la lesión y que la corrección de las anomalías lipídicas mejora las lesiones renales¹⁵. Sin embargo, no abundan los estudios en humanos o animales en que se utilicen estatinas para valorar sus efectos sobre la lesión renal.

Por ello, nos planteamos la aplicación del citado modelo para estudiar el efecto de la atorvastatina en el depósito de lípidos en el riñón, en los siguientes desarrollos experimentales:

1. Regresión espontánea de la lesión renal inducida por una dieta hiperlipémica (grupo C, al que se le retira posteriormente la dieta hiperlipémica).

2. Papel de la atorvastatina en procesos de regresión y progresión de la lesión renal inducida por una dieta hiperlipémica (grupo D o de regresión farmacológica, al que se le retira la dieta hiperlipémica y simultáneamente se le administra atorvastatina, y grupo E o de progresión en el que se continúa con la dieta hiperlipémica y se trata también con atorvastatina).

Con el fin de demostrar los objetivos planteados estudiamos el perfil lipídico plasmático y las características histológicas de los distintos grupos experimentales. También realizamos la cuantificación de los depósitos grasos por sistemas semi-quantitativos y análisis de imagen. El objetivo último fue, pues, estudiar histológicamente los efectos de la terapia con atorvastatina y la dieta, en grupos experimentales en los que se mantuvo o se retiró una dieta hiperlipémica, esto es, valoramos el efecto de este fármaco en los fenómenos

de progresión y regresión de los depósitos grasos en el riñón, así como la validación del modelo experimental.

Material y método

Animales

Para la realización de los protocolos experimentales se utilizaron 100 pollos de la raza White-Leghorn, de 3 semanas de edad, aislados en una habitación con temperatura controlada (dependencias del Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Murcia) y alimentados con la dieta usual para este tipo de animales. Tanto las jaulas de los animales como los procedimientos de sacrificio se ajustaron a la legislación vigente en materia de bienestar y experimentación animal, y los protocolos experimentales fueron aprobados por el Comité de Bioética de la Universidad de Murcia.

Grupos experimentales

A los 21 días de edad se separaron de forma arbitraria en 2 grupos, para iniciar la fase de inducción, mediante distintos regímenes de alimentación.

– Grupo A: 20 pollos alimentados con dieta normal (pienso estándar).

– Grupo B: 80 pollos alimentados con dieta grasa compuesta por pienso estándar más colesterol puro (un 2% del total de la mezcla) y un 20% del total de aceites saturados (aceite de palma crudo). Estas dietas se mantuvieron durante 3 meses y a continuación el grupo B fue dividido en 4 grupos al azar, en una segunda fase, para los estudios de progresión y regresión, según el esquema presentado en la figura 1.

– Grupo B: control con dieta grasa.

– Grupo C: animales que recibieron una primera fase descripción de dieta grasa (3 meses) y una segunda fase con dieta normal (3 meses).

– Grupo D: primera fase de 3 meses de inducción con dieta grasa seguida de retirada de la dieta grasa con administración de atorvastatina durante 3 meses.

– Grupo E: inducción con dieta grasa durante 3 meses y segunda fase de 3 meses de mantenimiento de la dieta grasa, junto con administración de atorvastatina.

La estatina empleada, atorvastatina (Zarator®, Parke-Davis Pfizer, Madrid) se administró por vía oral a una dosis de 3 mg/kg/día diluida en 2 ml de polietilenglicol. Se emplearon, como placebo, 2 ml de polietilenglicol en los grupos a los que no se administró el fármaco.

Previamente a la obtención del material de estudio, los animales se dejaron 12 h en ayunas. Posteriormente, se les extrajo muestras de sangre de la vena axilar o yugular, para las determinaciones bioquímicas, centrifugando a 3.000 rpm, durante 20 min, para obtener el plasma. El colesterol se determinó mediante el test color-enzimático (método CHOD-PAP). Los triglicéridos se determinaron por reacción colorimétrica, mediante la hidrólisis enzimática de los triglicéridos y la determinación enzimática subsiguiente del glicerol formado. Para ello, se emplearon los analizadores automáticos D2400 y P800 (Hitachi Ltd., Tokio, Japón) y reactivos de Roche Diagnostics (Barcelona).

Obtención del material

En cada una de las sesiones se anestesiaron 10 animales de cada grupo con una inyección intraperitoneal de pentobarbital (150 mg). En la disección, se obtuvieron las muestras de riñón de 10 animales por grupo experimental. Todo el proceso de anestesia, disección y fijación del material no excedió de los 30 min.

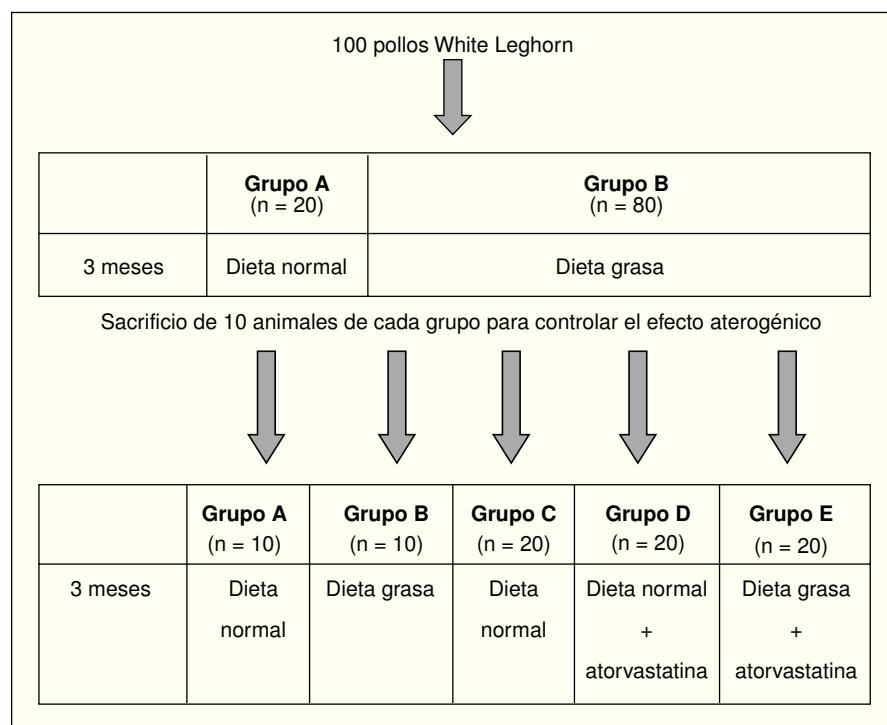


Figura 1. Esquema del diseño experimental empleado en el suministro de las dietas.

Histología

Para el estudio histológico se tomó una muestra de riñón por animal siempre de la misma región, que fueron fijadas por inmersión en un 10% de formaldehído en tampón fosfato salino con un pH de 7,4 (PBS), durante 10 h a temperatura ambiente. Posteriormente, se procesaron para su inclusión en parafina. Se obtuvieron cortes de 5 μm en un microtomo de rotación Microm (HM310).

Las secciones se depositaron en un portaobjetos impregnado con poli-L-lisina para evitar su desprendimiento¹⁶ y posteriormente se dejaron secar hasta el momento de la tinción. Se realizaron tinciones con hematoxilina-eosina, Periodic Acid Schiff (PAS)¹⁷ y tricrómico de Masson¹⁷.

Análisis de imagen

Posteriormente, se realizó una descripción de los riñones de cada animal según sus características histológicas y análisis cuantitativo de grasa. Los análisis cuantitativos se llevaron a cabo mediante una cámara Sony DXC151-AP acoplada a un microscopio Zeiss Axioskop conectado a un ordenador, con el software de análisis de imagen MIP-4.5 (Microm Image Processing Software, Digital Image System, Barcelona).

Valoración de la grasa

En la evaluación de la grasa se recogieron 3 tipos de datos:

1. Ausencia/presencia de grasa.
2. Tipo de depósito.
3. Tamaño y forma de la acumulación grasa.

1 y 2. Ausencia/presencia de grasa y tipo de depósito. Para la valoración de la ausencia/presencia de grasa y el tipo de depósito se realizó una valoración semicuantitativa, asignando puntuaciones numéricas con finalidad estadística a cada campo de observación, en un total de 100 campos (cuadrados de 134 μm de lado) por un grupo experimental. Se corresponde con 10 campos de observación por animal en muestras teñidas con hematoxilina-eosina.

Las puntuaciones asignadas fueron las siguientes:

- Ausencia/presencia de grasa: 0, ausencia; 1, presencia.
- Tipo de depósito: 0, inclusión lipídica aislada; 1, acumulación grasa y 2 mixto, combinación de los 2 anteriores.

Se analizó la media, el error estándar y el porcentaje de observaciones con presencia de grasa de cada grupo.

3. Tamaño y forma de la acumulación grasa. Las grandes acumulaciones grasas se valoraron por análisis de imagen. Tras la digitalización de la imagen, se seleccionaron interactivamente las acumulaciones, empleando el software MIP4.5. Se evaluaron el área, el diámetro máximo y la forma circular. El factor de forma circular correspondiente al círculo fue 1, mientras que 0 correspondió a una línea.

Estudio estadístico

Se realizó el análisis estadístico de los datos mediante el software SPSS 11, realizando una prueba ANOVA y un test de comparaciones múltiples, con una $p < 0,05$.

Resultados

Tras la obtención del plasma, se analizaron los valores de colesterol y triglicéridos (tabla 1). En

los resultados analíticos de colesterol y triglicéridos destacan los altos valores de éstos en el grupo B (dieta aterogénica) en contraste con las concentraciones obtenidas del grupo control A (animales sanos con alimentación estándar). Estos valores disminuyen en los grupos de regresión, en el caso del grupo C y en el grupo D, de regresión e intervención. También disminuyen en el grupo E, de progresión con intervención. Tras el análisis estadístico, se observaron diferencias significativas en los valores de colesterol y triglicéridos entre el grupo B y el resto de los grupos experimentales.

Descripción microscópica cualitativa

Esta descripción se ha realizado atendiendo a las características morfológicas indicativas de afección renal: depósitos de grasa, focos inflamatorios, daño glomerular y fibrosis.

A continuación se detallan las características encontradas en cada grupo experimental.

– En el grupo A, grupo control o de individuos sanos, no se observaron depósitos de grasa, focos inflamatorios ni daño glomerular. Tampoco se observó fibrosis (fig. 2a).

– En el grupo B, grupo control con dieta aterogénica, destacaban numerosas acumulaciones de grasa, que en muchas ocasiones ocupaban prácticamente todo el citoplasma en varias células contiguas, formando grandes acumulaciones grasas. En algunos cortes se observaban focos inflamatorios difusos rodeando las acumulaciones grasas. El mesangio de los glomérulos aparecía habitualmente denso y, en ocasiones, algunos casos obliterando la luz, características indicativas de daño glomerular (fig. 2b).

– En el grupo C, grupo de regresión con dieta normal sin intervención con atorvastatina, se observaron numerosos depósitos grasos, aunque de menor tamaño y en menor cantidad. No eran destacables los focos inflamatorios. Los glomérulos presentaban un aumento del mesangio, aunque en

Tabla 1. Resultados analíticos de colesterol y triglicéridos

Grupo experimental	Colesterol (mg/dl)	Triglicéridos (mg/dl)
Grupo A	95,10 \pm 5,93	79,55 \pm 33,49
Grupo B	1.136,00 \pm 196,2*	454,00 \pm 165,90*
Grupo C	204,20 \pm 40,87	153,40 \pm 90,92
Grupo D	172,40 \pm 44,68	31,60 \pm 7,24
Grupo E	413,75 \pm 83,80	356,88 \pm 130,32

*Diferencias significativas entre el grupo B y los demás grupos ($p < 0,05$).

menor cantidad que el grupo B. No se observaba fibrosis (fig. 2c).

– En el grupo D, grupo de regresión con dieta normal e intervención administrando atorvastatina, las acumulaciones grasas prácticamente eran inexistentes y se asemejaban a las características del grupo control A. No se observaban focos inflamatorios. No destacaba daño glomerular ni fibrosis (fig. 2d).

– En el grupo E, grupo de progresión con dieta aterogénica e intervención con atorvastatina, se

describieron también grandes acumulaciones grasas y pequeños depósitos intracelulares aislados. Se observaron pequeños focos inflamatorios, daño glomerular moderado y no destacó fibrosis (fig. 2e).

Valoración microscópica cuantitativa

La valoración microscópica cuantitativa se llevó a cabo por análisis de imagen.

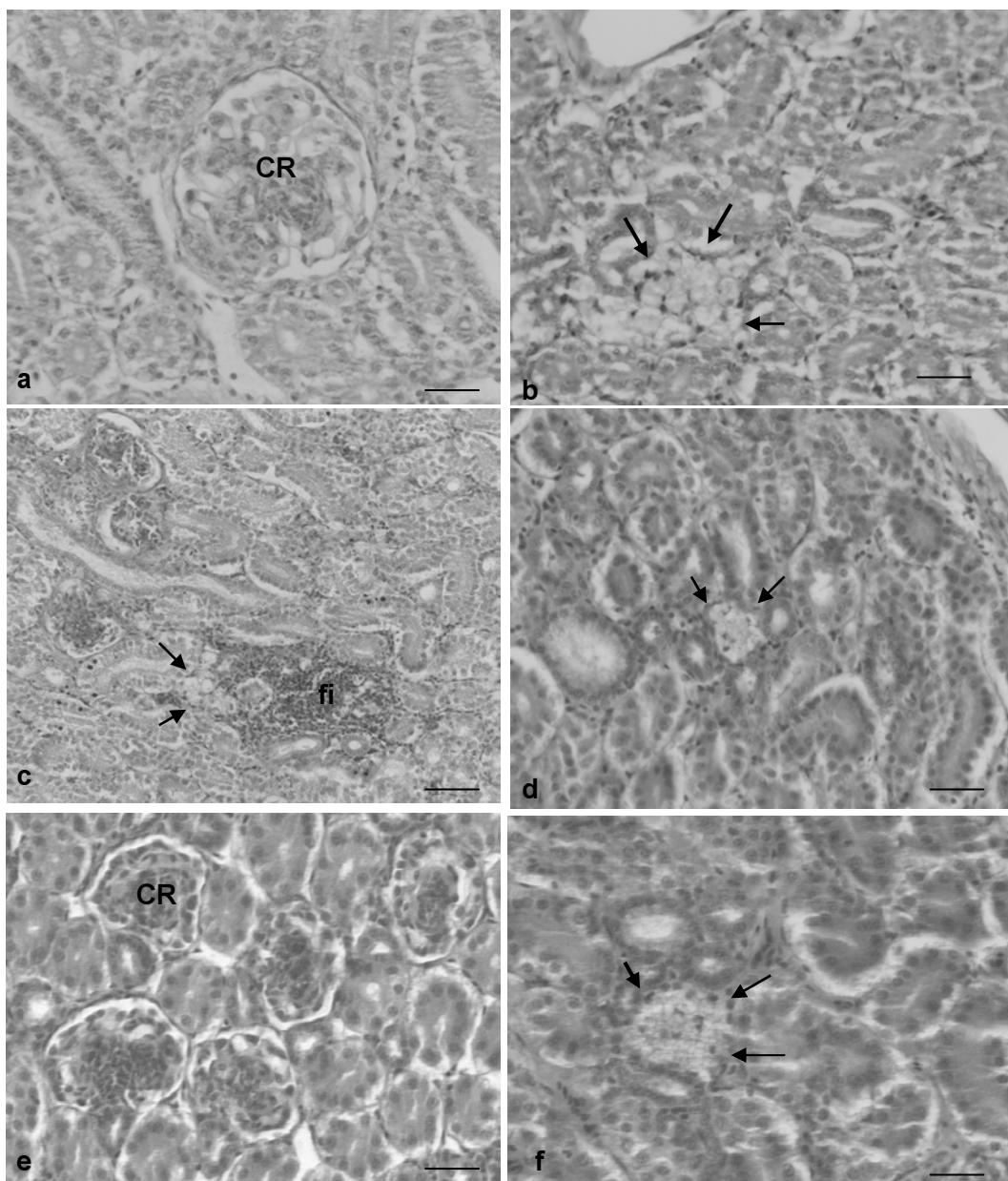


Figura 2. Imágenes histológicas características de cada grupo experimental: a) grupo A; b y c) grupo B; d) grupo C; e) grupo D; f) grupo E. CR: corpúsculo renal; fi: focos inflamatorios; flechas: grasa; barra en a, b, d, e, f: 30 μ m; barra en c: 50 μ m.

Valoración semicuantitativa de ausencia/presencia de grasa

Los resultados de la valoración de ausencia/presencia de grasa se exponen en la tabla 2. En el grupo control sano (grupo A) no se observó la existencia de grasa intracelular aislada ni grandes acumulaciones grasas confluyentes. Los grupos B, C y E presentaron una destacada presencia de grasa en el riñón sin que hubiera diferencias significativas entre ellos. El grupo D, de regresión e intervención, presentó una menor presencia de grasa que los anteriores, lo que supuso una diferencia significativa con todos los grupos.

Tras el análisis de la frecuencia de ausencia/presencia de grasa en cada grupo experimental (tabla 2), encontramos que todos los campos de observación del grupo A carecían de grasa mientras que los mayores porcentajes se encontraban en los grupos B y C, y fueron menores en los 2 grupos de intervención del estudio (grupos D y E); el grupo D, de regresión con intervención, mostró los porcentajes más bajos de presencia de grasa, diferencia que fue significativa. Los animales del grupo E, de progresión con intervención, también mostraron un bajo porcentaje de presencia de grasa, aunque esta diferencia no fue significativa.

Valoración del tipo de depósito graso

Dentro de los riñones que presentaban grasa encontramos que las muestras del grupo B mostraban un tipo de depósito mixto y el menor valor de puntuación se encontraba en el grupo D, y puso de manifiesto el menor contenido graso en forma de pequeños depósitos o inclusiones aisladas (tabla 2).

Además, se estudió qué porcentaje representaba cada tipo de depósito (tabla 3). En la observación de las muestras de riñón del grupo B, el 100% de las observaciones se clasificaron como tipo 2, es decir de tipo mixto, y presentaron acumulaciones grasas de gran tamaño y células con pequeñas in-

Tabla 2. Valoración semicuantitativa de la grasa renal

Grupo experimental	Ausencia/presencia grasa ^a	Presencia grasa (%) ^b	Tipo de depósito graso ^c
Grupo A	0 ± 0,00 ^a	0	—
Grupo B	0,72 ± 0,04 ^b	72,89	2 ± 0,0*
Grupo C	0,75 ± 0,06 ^b	75,47	0,9 ± 0,12
Grupo D	0,39 ± 0,06 ^c	39,72*	0,62 ± 0,14
Grupo E	0,66 ± 0,07 ^b	66,66	0,86 ± 0,62

^aDatos expresados como media ± error estándar; 0: ausencia, 1: presencia de grasa en el riñón. Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas $p < 0,05$.

^bPorcentaje de observaciones con presencia de grasa, tras análisis de 100 campos de observación.

^cValoración semicuantitativa del factor tipo de depósito graso. Datos expresados como media ± desviación estándar; 0: inclusión lipídica aislada, 1: acumulación grasa y 2 tipo mixto: combinación de los 2 anteriores.

*El grupo presenta diferencias estadísticamente significativas con el resto ($p < 0,05$).

clusiones lipídicas, lo que supuso una diferencia estadísticamente significativa con el resto de los grupos. En el grupo C, el porcentaje de pequeños y grandes depósitos grasos fue muy similar, mientras que en el grupo D el mayor porcentaje correspondía a los pequeños depósitos de grasa. Por último, cabe destacar que en el grupo E predominaron las grandes acumulaciones lipídicas.

Valoración del tamaño y la forma de las acumulaciones grasas

Los resultados se exponen en la tabla 3.

– *Diámetro máximo*. El mayor diámetro máximo de las acumulaciones grasas se encontró en el grupo B, con diferencias significativas en todos los grupos. También, en el grupo D, de regresión e intervención con atorvastatina, se encontró que el diámetro de la acumulación grasa es significativamente menor respecto al resto de los grupos.

– *Área y forma circular*. Al igual que con el diámetro máximo, se apreciaron diferencias significa-

Tabla 3. Clasificación del tipo de depósito graso en porcentajes y otros parámetros morfométricos de las acumulaciones grasas

Grupo experimental	Tipo de depósito graso			Acumulaciones grasas confluyentes		
	Pequeños depósitos aislados	Acumulaciones de grasa confluyente	Mixto	Diámetro máximo (μm)	Área (μm^2)	Factor forma circular
Grupo B	—	—	100%	37,37 ± 1,46 ^a	614,43 ± 42,8*	0,63 ± 0,01*
Grupo C	37,5%	35%	27,5%	17,73 ± 1,27 ^b	145,58 ± 18,15	0,70 ± 0,02
Grupo D	55,17%	27,5%	17,24%	12,10 ± 0,79 ^c	76,13 ± 9,30*	0,74 ± 0,01
Grupo E	26,6%	60%	13,3%	17,9 ± 0,99 ^b	151,06 ± 13,19	0,70 ± 0,01

Letras distintas indican diferencias significativas con los demás grupos.

* $p < 0,05$, grupo con diferencias significativas con los demás grupos.

tivas entre el grupo control de dieta aterogénica (grupo B) y el resto de los grupos. En el grupo D, se encontró que el área de la acumulación grasa fue significativamente menor y presentó la mayor tendencia a la forma circular (fig. 3).

Discusión

Los valores de colesterol del grupo control de dieta aterogénica superan de forma significativa a los obtenidos en el grupo control sano y se observa un descenso de colesterol y triglicéridos en los de regresión espontánea, más potenciado en el grupo de intervención y regresión. Estos resultados coinciden con los encontrados por otros investigadores usando atorvastatina y otras estatinas^{12,18}.

En nuestro estudio se han valorado los depósitos grases en el riñón en los distintos grupos experimentales en las muestras histológicas. En el riñón, de forma paralela a lo que ocurre a escala sistémica en la arteriosclerosis, en este caso glo-merulosclerosis, el proceso se inicia con el depósito de grasa y la formación de células espumosas en distintas zonas, lo que representa la fase xantomatosa o de lesión inicial. El significado de depósitos grases en el riñón y su relación con la enfermedad renal progresiva son un tema de creciente interés¹⁹.

En revisiones bibliográficas, no hemos encontrado estudios similares en los que se cuantifique mediante análisis de imagen la cantidad, la morfología, así como la distribución de los depósitos grases en distintos grupos de estudio.

En la valoración semicuantitativa de la ausencia o la presencia de grasa renal, en el grupo D encontramos diferencias significativas en el análisis del

factor presencia de grasa. Por ello, podemos decir que la atorvastatina acompañada de una dieta adecuada en nuestro modelo de estudio produce una regresión de la enfermedad. Ni la dieta por sí sola ni la atorvastatina en el grupo de progresión provocan beneficios significativos en la presencia de grasa en parénquima renal en el tiempo empleado en este experimento.

Aunque el grupo E de progresión con estatinas muestra una menor presencia de grasa que los grupos B, grupo de dieta aterogénica, y C, grupo de regresión sin intervención, no podemos decir que la atorvastatina en el tiempo empleado impida la progresión de forma significativa.

En la observación de las muestras de riñón que contenían grasa del grupo B (control con dieta aterogénica), el 100% presentaban pequeñas inclusiones y grandes acumulaciones grases, lo que interpretamos como una característica de una mayor afectación grasa en el riñón. En cambio en el grupo D, con retirada de la dieta aterogénica e intervención con atorvastatina, que era el que menor cantidad de grasa renal había presentado, predominaban las pequeñas inclusiones lipídicas. Según lo observado, se podría sugerir que la enfermedad en su inicio presenta pequeñas inclusiones lipídicas y cuando esta avanza la grasa ocupa todo el citoplasma celular en varias células contiguas formando acumulaciones grases de gran tamaño.

El efecto de la atorvastatina sobre la eliminación de los acúmulos grases comienza por una disminución en las grandes acumulaciones y, en este caso y en el tiempo empleado, hemos observado una disminución significativa de la grasa renal en el grupo

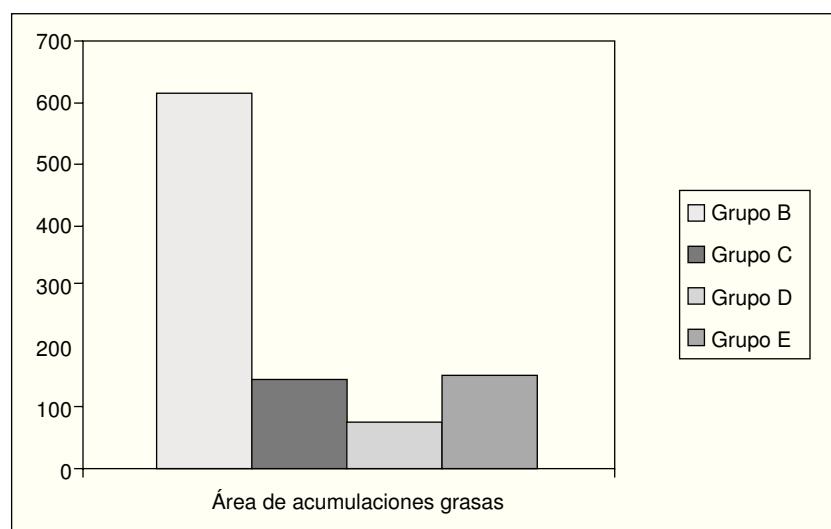


Figura 3. Representación gráfica del área de las acumulaciones grases en los distintos grupos experimentales.

de progresión con intervención (grupo E) en comparación con el grupo B de dieta aterogénica, por lo que podemos decir que frena la progresión. En el mismo sentido, Vázquez Pérez et al²⁰ describieron la reducción del contenido lipídico renal, usando atorvastatina en conejos alimentados con una dieta hiperlipémica.

Al encontrar diferencias significativas entre el grupo B, y el resto de los grupos tanto en el área como en el diámetro máximo, la atorvastatina acelera la regresión del depósito de grasa e impide de forma significativa la progresión de la enfermedad renal por depósito graso.

Del estudio de los depósitos grasos, cabe destacar que el suministro de una dieta aterogénica indujo en los animales la aparición de acumulaciones de mayor tamaño y, de forma irregular. Sin embargo, al añadir atorvastatina y de forma más destacada, si realizamos a la vez una retirada de la dieta aterogénica, el tamaño y la cantidad del depósito graso disminuye y aumenta la dispersión de la grasa, que se sitúa en células aisladas, tomando forma circular los pequeñas acumulaciones restantes.

Junto con estos hallazgos, que indican el papel de la atorvastatina en la disminución de acumulaciones grasas en el riñón, otros autores han demostrado también que las estatinas reducen la inflamación y la fibrosis en el tejido renal y aumentan la perfusión, asociada a un descenso del estrés oxidativo, en un estudio con cerdos sometidos a una dieta hipercolesterolémica y tratados con simvastatina²¹; previenen la expresión del receptor de la lipoproteína de baja densidad oxidada en la arteria renal (estudios con fluvastatina en conejos sometidos a dieta hipercolesterolémica²²), o preservan la función endotelial (modelo de ratas Sprague Dawley tratadas con pravastatina²³). Todos estos hallazgos reflejan el efecto nefroprotector de los inhibidores de la HMG-CoA-reductasa.

En resumen, podemos concluir que nuestro modelo experimental constituye para el estudio del riñón graso un modelo homogéneo y de fácil manejo y cuyos resultados se pueden contrastar con los de otras especies. La retirada de la dieta grasa y administración simultánea de atorvastatina da lugar a los índices más bajos en la cuantificación de depósitos grasos renales. La retirada por sí sola de la dieta no produce efectos tan marcados. En los animales que mantenían una dieta grasa y, además, se les administraba atorvastatina sí se observó un bajo (aunque no significativo) porcentaje de depósitos grasos renales. Del estudio conjunto de los di-

ferentes parámetros se deduce que la atorvastatina acelera la regresión y frena la progresión de las acumulaciones grasas renales.

Agradecimientos

Agradecemos la colaboración de la empresa Hijos de Juan Pujante, S.A. y Avícola Levantina, S.A. y de su veterinario, Dr. D. Juan Pablo Pérez Ruzafa. También queremos expresar nuestro reconocimiento a Pfizer España por el suministro de los fármacos.

Bibliografía

1. Scoble JE. Atherosclerotic nephropathy. *Kidney Int.* 1999;71: S106-9.
2. Grone EF, Walli AK, Grone HJ, Miller B, Seidel D. The role of lipids in nephrosclerosis and glomerulosclerosis. *Atherosclerosis.* 1994;107:1-13.
3. Keane WF, Kasiske BL, O'Donnell MP. Lipids and progressive glomerulosclerosis: a model analogous to atherosclerosis. *Am J Nephrol.* 1988;8:261-71.
4. Hansson GK. Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2005;352:1685-95.
5. Muntner PM, Coresh J, Klag MJ, Smith JC, Eckfeldt J. Lipids and incipient hypercreatinemia: a prospective association. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:617.
6. Samuelsson O, Mulec H, Knight-Gibson C, Attman PO, Kron B, Larsson R, et al. Lipoproteins abnormalities are associated with increased rate of progression of human chronic renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant.* 1997;12:1908-15.
7. Kasiske BL, O'Donnell MD, Cleary MP, Keane WF. Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney Int.* 1998;53:667-72.
8. Kees-Folts D, Diamond JR. Relationship between hyperlipidemia, lipid mediators, and progressive glomerulosclerosis in the nephrotic syndrome. *Am J Nephrol.* 1993;13:365-75.
9. Joles JA, Kunter U, Janssen U, Kriz W, Rabelink TJ, Koomans HA, et al. Early mechanisms of renal injury in hypercholesterolemic or hypertriglyceridemic rats. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:669-83.
10. Dominguez JH, Tang N, Xu W, Evan AP, Siakotos AN, Agarwal R, et al. Studies of renal injury. III. Lipid-induced nephropathy in type II diabetes. *Kidney Int.* 2000;57:92-104.
11. García Pérez B, Ayala I, Castells MT, Madrid JF, Ortega MR, Ortega JV, et al. Planimetric and histological study of the aorta in atherosclerotic chickens treated with nifedipine, verapamil and diltiazem. *Histol Histopathol.* 2003;18:1027-33.
12. García Pérez B, Ayala I, Doménech G, Sánchez Polo MT, García Partida P, Valdés M. Effects of nifedipine, Verapamil and Diltiazem on serum Biochemical parameters and aortic composition of atherosclerotic chickens. *Biomed Pharmacother.* 2005;59:1-7.
13. Ayala I, García Pérez B, Domenech G, Castells MT, Valdés M. Use of the chicken as an experimental model in atherosclerosis. *Avian Poult Biol Rev.* 2005;16:151-9.
14. Hernández-Espinosa D, Ayala I, Castells MT, García-Pérez B, Martín-Castillo A, Miñano A, et al. Intracellular retention of hepatic serpins caused by severe hyperlipidemia. *Liver Int.* 2006; 26:708-15.
15. Keane WF, Kasiske B, O'Donnell MP, Kim Y. Hypertension, hyperlipidemia and renal damage. *Am J Kidney Dis.* 1993;21:43-50.
16. Huang WM, Gibson SJ, Facer P, Gu J, Polak JM. Improved section adhesion for immunocytochemistry using high molecular weight polymers of L-lysine as a slide coating. *Histochem.* 1983; 77: 275-7.
17. Martoja R, Martoja M. Técnicas de histología animal. Barcelona: Toray-Masson; 1970.
18. Levy RI, Troendle AJ, Fattu JM. A quarter century of drug treatment of dyslipoproteinemia, with a focus on the new HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin. *Circulation.* 1993;87:III45-53.

19. Studer RK, Negrete H, Craven PA, DeRubertis FR. Protein kinase C signals thromboxane-induced increases in fibronectin synthesis and TGF- β bioactivity in mesangial cells. *Kidney Int.* 1995;48:422-30.
20. Vázquez Pérez S, Aragoncillo P, De las Heras N, Navarro-Cid J, Cediel E, Sanz R, et al. Atorvastatin prevents glomeruloesclerosis and renal endothelial dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. *Nephrol Dial Transpl.* 2001;16:40-4.
21. Wilson SH, Chade AR, Feldstein A, Sawamura T, Napoli C, Lerman A, et al. Lipid lowering-independent effects of simvastatin on the kidney in experimental hypercholesterolaemia. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18:703-9.
22. Yu IH, Wang Y. Fluvastatin prevents renal injury and expression of lactin like oxidized low density lipoprotein receptor-1 in rabbits with hypercholesterolemia. *Chin Med J (eng).* 2005;118:621-6.
23. Casey RG, Joyce M, Roche-Nagle G, Chen G, Bouchier-Hayes D. Pravastatin modulates early diabetic nephropathy in an experimental model of diabetic renal disease. *J Surg Res.* 2005;132: 176-81.