

Laboratorios de Fisiología del Instituto Cajal
y de la Facultad de Medicina de Madrid.
(Director: Profesor José M.^o de Corral)

Mecanismo de producción de un tipo especial de lesión renal, hallado en ratas sometidas a dietas carenciales

por Antonio Gallego Fernández y Francisco ~~García~~ González

(Recibido para publicar el 5 de enero de 1949)

Con objeto de analizar la acción antagónica de diferentes vitaminas, hemos estudiado ratas sometidas a diversas dietas pluricarenciales. En algunos de estos animales hemos encontrado un curioso tipo de lesión renal caracterizado microscópicamente por un aumento considerable del tamaño de ambos riñones, que al corte presentaban un aspecto finamente granuloso. El estudio microscópico nos reveló la presencia de depósitos cálcicos dispuestos en capas concéntricas, situados en la luz de los tubos colectores, junto con una extensa degeneración grasa, y en los casos más avanzados una infiltración calcárea de las células del resto de la nefrona (fig. 1).

Al revisar la literatura científica encontramos que este tipo de lesión renal había sido ya descrito con anterioridad, y que su mecanismo de producción no estaba aún estudiado suficientemente.

En la rata, Martínez Pérez y Rodríguez Candela (5) describieron la lesión en el beri-beri experimental. En la avitaminosis A experimental es bien conocido y frecuente el hallazgo de concreciones calcáreas en los tubos degenerados; pero exclusivamente en los lugares que han sufrido procesos infectivos, tan frecuentes en esta avitaminosis.

Más abundantes y de mayor interés son los datos que se refieren a un tipo análogo de lesiones visto en el hombre en casos de estenosis pilórica y vómitos repetidos (Brown, Eustermann, Hartmann y Rowntree (2), etc.).

Borst (1), Hoff (3), Tschilow (9), Rohland (8), que describen también esta lesión renal, hallan además en todos sus casos una marcada hipocloremia. Pérez Castro (7) hizo un excelente resumen bi-

biográfico de los casos estudiados hasta la publicación de su trabajo y en él describe cinco nuevas observaciones con detallada autopsia, en las que pudo comprobar las típicas lesiones renales que van a ser objeto de nuestro estudio.

Los estudios experimentales de Hatano (4) — continuando la labor de Pérez Castro en el laboratorio de Buchner — demuestran que la rápida pérdida de ión cloro desempeña un importante papel en el desarrollo de la uremia — que observaba en sus casos — y de las lesiones renales. Los estudios experimentales de Hatano se llevaron a cabo en perros a los que provocaba quirúrgicamente una estenosis

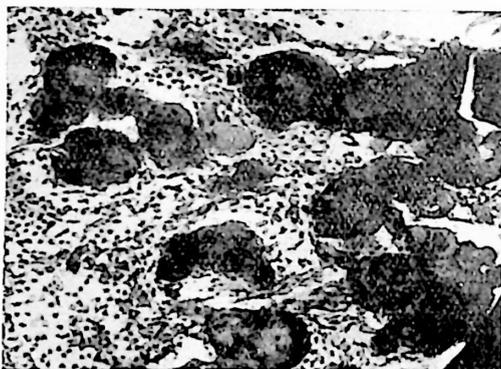


Figura 1

Depósitos cálcicos en el riñón de una rata sometida a una dieta carente de vitaminas A, D, B, y complejo B₂.

pilórica grave. Del mismo modo experimental Zeeman, Friedmann y Mann (10) producen esas lesiones renales en el gato.

Saltaba a la vista la analogía del tipo de lesión renal encontrado en la rata por nosotros, con el que los últimos autores citados habían demostrado en el hombre, perro y gato. Como quiera que todos ellos, especialmente desde los trabajos experimentales de Hatano, atribuyen esa lesión a la hipocloremia, creímos de interés fijar las condiciones en que este tipo de lesión hallado por nosotros en la rata, a fin de averiguar el papel que en su génesis podrían tener las carencias de las diferentes vitaminas.

Con este objeto creímos de interés volver a estudiar las carencias puras que habían sido descritas como causantes de un tipo tal de lesión, así como las de los animales sometidos a dietas pluricarentiales, que en nuestras manos, según dijimos antes, condujeron al mismo resultado.

Además hemos investigado la cloremia de los animales con el fin de ver la relación que pudiera existir entre ella y la génesis de las lesiones.

Métodos

La *dieta alimenticia* para los diferentes lotes estaba constituida por una mezcla básica que contenía:

Caseína	18 %
Almidón	66 %
Aceite de oliva	8 %
Sales de Mc. Collum.....	4 %

La caseína y el almidón eran extraídos tres veces durante cinco horas con alcohol de 95° a reflujo, siendo después desecados en la estufa a 120° durante una hora. Obteniéndose de esta forma un alimento carente de las vitaminas A, D y de todo el complejo B.

A esta dieta, a la que se añadía en los lotes 1 y 4 un 4 % de levadura de cerveza desecada (§) y en el núm. 2 levadura pasada previamente por el autoclave. Los lotes 3 y 5 no recibían levadura con lo que variaban ligeramente los porcentajes de cada uno de los compuestos de la dieta básica. Los lotes 2 y 3 recibían aceite de hígado de pescado cada dos días en gotas directamente con pipeta — las dosis se indicarán en cada lote —. El aceite empleado poseía una concentración de vitamina A de 1000 u. i. por gramo y de vitamina D de 100 u. i. por gramo.

La *determinación de cloro* en sangre se llevaba a cabo por el método de Patterson (6).

Debemos agradecer al Dr. R. Ibáñez la enseñanza de la técnica de extracción sanguínea por punción de la vena cerebral anterior, la que nos ha permitido obtener muestras de sangre con relativa facilidad.

La demostración histológica del calcio, se llevó a cabo por el *método microquímico* de Kossa y las preparaciones de conjunto se obtuvieron por tinciones con hematoxilinaeosina y carbonato de plata Río Hortega.

Resultados

Lote núm. 1: Dieta carente de vitamina A. — Se sometieron 15 animales a la dieta base con adición de levadura de cerveza y aceite de oliva con vitamina D (100 U. I. por c. c.), dándose a los animales diariamente 0'1 c. c., o sea 10 U. I.

Los animales número 92, 93 y 102 murieron sin presentar sintomatología carencial (el 102 murió muy precozmente). Los 12 animales restantes presentaron un cuadro carencial típico caracterizado por un crecimiento inicial deficiente, que pronto se detuvo. En los últimos días los animales perdían peso, como se puede ver en la curva de crecimiento larga y tendida (fig. 2).

A los 20 ó 25 días de dieta se les cae el pelo por algunas regiones y comienzan a ponerse en evidencia blefaritis discretas que desembocan entre los 30 y 40 días en un cuadro ocular típico: xerosis de córnea, ulceritas y panoftalmía.

(§) La levadura empleada según nuestros análisis contenía 5 mgrs. de aneurina y 3 mgrs. de lactoflevina.

Los animales que presentaron el cuadro típico fueron sacrificados en los días que se señalan en la figura 2. Las determinaciones de cloro en sangre se llevaron a cabo cada diez días en cada animal. Los datos obtenidos se resumen en el cuadro 1.º

El aspecto histológico del riñón fué el clásico de la avitaminosis A: abscesos y zonas de retracción cicatricial, en cuyo seno se ven algunos tubos degenerados, infiltrados por sales calcáreas (fig. 3). El epitelio de la pelvis renal ha sufrido un proceso de cornificación. La pelvis se encuentra muy dilatada y el parénquima renal en algún

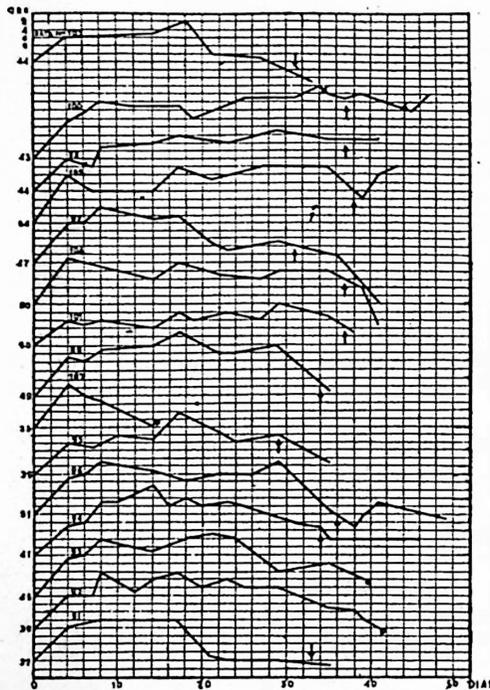


Figura 2

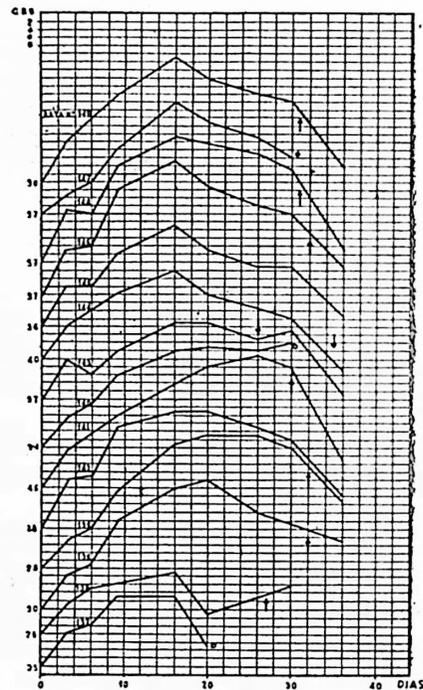


Figura 4

caso (riñones de las ratas, núms. 100, 96 y 92) se encuentra muy disminuído (rechazado por hidronefrosis), lo que confiere a los cortes aspecto semilunar.

Esta infiltración secundaria, por sales de cal, de los tubos degenerados, procesos por los demás bien conocidos, es completamente diferente del de las lesiones renales que constituyen el objeto de nuestro trabajo.

Como puede verse en el cuadro 1.º no ha habido en nuestros animales variaciones definidas en la cifra de cloremia durante el tiempo que ha durado el experimento.

Lote núm. 2: Dieta carente de vitamina B. — Ha sido estudiado un lote de 14 animales sometidos a esta dieta, que tenían un peso inicial comprendido entre 24 y 46 grs. Además, con motivo de otro



Figura 3

Rata sometida a dieta carente de vitamina A. Corte de riñón que demuestra la existencia de depósitos cálcicos en una zona cicatricial.

trabajo, hemos estudiado 75 animales en dieta carente de B₁, pero en ellos hemos investigado únicamente si existía la lesión renal descrita por Martínez Pérez y Rodríguez Candela en el beri-beri experimental.

Entre los días 25 y 30, de encontrarse los animales sometidos a la alimentación carencial y a continuación del momento en que se

T A B L A I

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE ANIMALES
SOMETIDOS A UNA DIETA CARENTE DE VITAMINA A (1)

R A T A N . °	91	92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104	105
Antes de la dieta carencial		293	307		319	318			305	303	315		389		
A los 10 días de la dieta	320	302	310		323	310	290	330	308	309		313		318	305
A los 20 días de la dieta	328		301	315		306	301	323	317		310		296	316	313
A los 30 días de la dieta	319	311	305		316	314	296	320			304		314		324

(1) Mil gramos de Cl. por 100 cc de sangre.

inicia el descenso de peso tan característico (aproximadamente hacia el día 20), se presenta sistemáticamente el siguiente cuadro muy típico.

Comienzan los síntomas observados por trastornos de los miembros posteriores en la marcha: parece como si el animal le fuese doloroso el apoyar las patas y esto hace la marcha lenta y los movimientos torpes. Aun cuando en sus comienzos estos trastornos son un poco difíciles de enjuiciar como tales, pasados dos o tres días la observación cuidadosa del animal nos saca de dudas en cuanto a la valoración de aquéllos, sobre todo si establecemos una comparación con las ratas testigos. La recuperación de la posición normal después de colocar al animal en decúbito supino la hace éste con dificultades y perezosamente. El animal come apoyado en sus cuatro extremidades y no sólo sobre las patas posteriores como lo hacen los animales normales, que como es sabido sujetan el alimento con las anteriores.

Cuando trepan por las paredes de la jaula lo hacen sirviéndose sólo de sus extremidades anteriores; el mantenerse en el borde del bebedero, como hacen las ratas normales, les es sumamente difícil, cayendo hacia atrás o adelante. Estos síntomas iniciales se van progresivamente agravando. El animal anda muchas veces hacia atrás como consecuencia de la parálisis del tren posterior y aumento de

TABLA II

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE RATAS
SOMETIDAS A UNA DIETA CARENTE DE VITAMINA B₁ (1)

RATA N.º	136	137	138	139	140	141	142	143	144	145	146	147	148	149
Antes de la dieta carencial	320	308	305	313		298		309	318		298	301	323	302
A los 10 días de la dieta	332	315		307	331	306	322		324	306	304		322	315
A los 20 días de la dieta		322		309	322	203	313		331	313	290	320		
A los 30 días de la dieta	315			300		312	319	318	321			317	327	315

(1) Miligramos de Cl. por 100 cc. de sangre

tono del anterior; está sujeto a un claro temblor intencional y finalmente se presenta un cuadro convulsivo, que suele terminar con la muerte.

Los accesos convulsivos son típicos: comienzan fijando el animal sus cuatro extremidades, que quedan como clavadas en el suelo, basculando su cuerpo hacia atrás como consecuencia de la hiperextensión de las extremidades anteriores. Sin mover las patas, el animal ba-

lancea su cuerpo a derecha e izquierda hasta que al fin cae sobre uno de los costados, desarrollándose entonces un cuadro de violentas convulsiones. Los primeros ataques pasan y el animal queda completamente extenuado, inmóvil; el cuadro descrito se reproduce al cabo de un lapso de tiempo, que progresivamente va haciéndose más corto hasta la muerte del animal.

Cuando se presentaron los accesos convulsivos, los animales solían morir antes de las 24 horas, por lo que una vez aparecido el cuadro que describimos, los hemos matado y sometido a una cuidadosa autopsia.

Siempre que se pudo obtener sangre se hicieron las determinaciones de cloro, procurando fueran cada diez días.

Histológicamente sólo hemos podido hallar en el riñón una in-

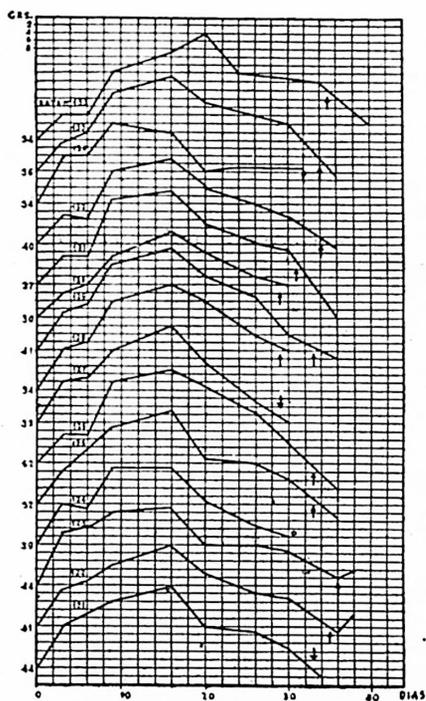


Figura 5

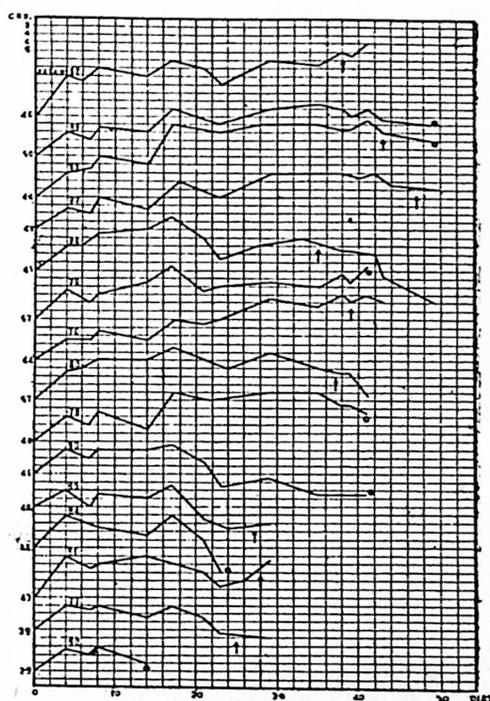


Figura 6

tensa congestión y en algunos casos una ligera degeneración albuminosa.

Ni en este lote de 14 animales ni en los otros 75 estudiados que indicábamos al principio hemos podido encontrar las alteraciones descritas por Martínez Pérez y Rodríguez Candela.

Las cifras de cloremia se agrupan en el cuadro núm. 2 y no demuestran alteraciones definidas.

Lote núm. 3: Dieta carente de complejo B. — Se estudiaron 15 animales que presentaron a los 30 a 40 días una sintomatología carencial correspondiente en un todo a la del beri-beri experimental de la rata descrita en el lote anterior (fig. 5).

Las determinaciones de cloro han dado el resultado que se expone en el cuadro 3.º.

Los datos histológicos de las alteraciones renales son superponibles a los del lote anterior.

Lote núm. 4: Dieta carente de vitaminas A y D. — Los 15 animales de este lote fueron sometidos a la dieta base con adición de levadura de cerveza, pero sin el aceite de hígado de pescado.

Murieron en tiempo relativamente breve, sin presentar alteraciones carenciales de ningún tipo los animales 84 y 90.

Nueve animales presentaron sintomatología carencial de avitaminosis A (análoga a la descrita en el grupo núm. 1), y los restantes

T A B L A III

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE RATAS SOMETIDAS A UNA DIETA CARENTE DEL COMPLEJO VITAMINICO B (1)

RATA N.º	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135
Antes de la dieta carencial	307		315	298	299	321			320	313		301	277	288	324
A los 10 días de la dieta		320	311	305		320		316			314	310	290		
A los 20 días de la dieta	313		311	312	305	314	317	312	316		319		281	301	316
A los 30 días de la dieta	318	315	323	310	306	311		315	318	311	300	303	289	293	310

(1) Miligramos de Cl. por 100 cc. de sangre

cuatro murieron sin llegar a presentar ningún cuadro típico de carencia (fig. 6). El estudio después de sacrificados reveló, en cambio, en todos los animales, excepto los 82, 86 y 87, la presencia de un raquitismo avanzado (1).

El estudio de la cloremia fué llevado a cabo como en los casos anteriores. (V. cuadro 4.º)

Las lesiones histológicas halladas en el riñón fueron las de una avitaminosis A, si bien de menor intensidad que las correspondientes al lote núm. 1: cornificación del epitelio de la pelvis renal y abscesos (en menor número que en el lote núm. 1). No comprobamos hidronefrosis tan marcadas como en el lote núm. 1.

(1) Grado n.º 1 de curación de la escala oficial del Instituto Técnico de Farmacobiología.

TABLA IV
 CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE ANIMALES SOMETIDOS A UNA DIETA
 CARENTE DE VITAMINAS A Y D (1)

RATA N.º	76	77	78	79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
Antes de la dieta carencial	320		284		330	307	315		289		311	299	304	315	308
A los 10 días de la dieta		316	289	305	318	311	312	317	294	303	322	293			311
A los 20 días de la dieta	311	326		301	323	311		315		315	309	304	309	317	
A los 30 días de la dieta	319		298		328		308	310			317	300	313	325	
A los 40 días de la dieta	310										293	307	318	320	

(1) Miligramos de Cl. por 100 cc. de sangre

Lote núm. 5: Dieta carenate de vitaminas A, D y complejo B. — Hemos estudiado 15 animales de un peso inicial comprendido entre

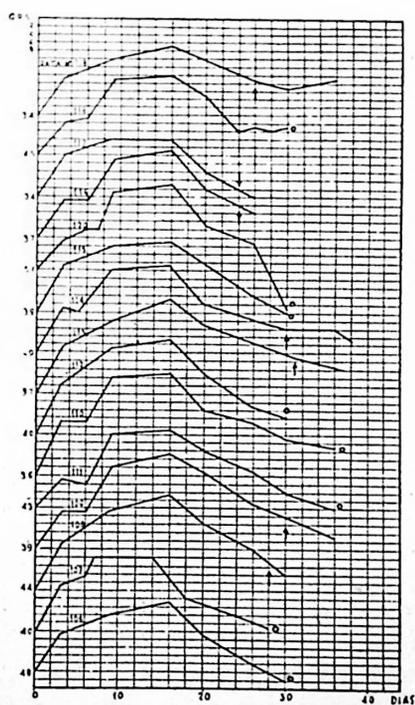


Figura 7

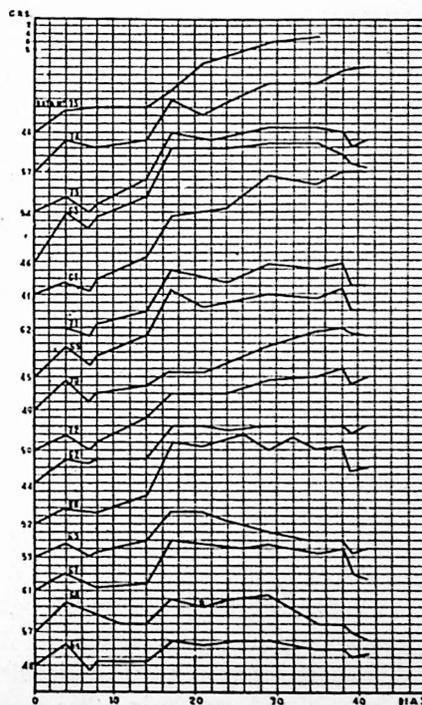


Figura 9

34 y 48 grs. Se les administró la dieta base sin adición de levadura de cerveza ni aceite de hígado de pescado.

Exceptuando un caso (rata núm. 113), que presentó una xerofalmía típica, todos los demás que presentaron sintomatología carencial (7 animales) lo hicieron exhibiendo un cuadro típico de beri-beri experimental. Los 7 animales restantes llegaron a la muerte sin manifestar ningún cuadro sintomático fácilmente clasificable: se caracterizaban únicamente por su pérdida de peso, debilidad general y diarreas (fig. 7).

Las determinaciones de cloro se agrupan en el cuadro 5.

El estudio histológico del riñón revela en los animales 109, 111, 114 y 118 la presencia de la típica lesión que mencionamos al prin-

T A B L A V

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE RATAS SOMETIDA A UNA DIETA CARENTE DE VITAMINAS A, D Y COMPLEJO B. (1)

RATA N.º	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120
Antes de la dieta carencial		282	319	288		292	371		317	314	320		303	315	321
A los 10 días de la dieta	293	291		295	307	296	303	378		310	313	307	300	310	
A los 20 días de la dieta	281	296	318	212	301	230	299	377	202	311		302	201		320
A los 30 días de la dieta				160	299	147		379	168				155		

(1) Miligramos de Cl. por 100 cc. de sangre

cipio de nuestro trabajo. Los animales 114 y 118 mostraban en la luz de los tubos colectores un abundante depósito de sales de calcio, dispuesto en capas concéntricas (fig. 8). El epitelio tubular en las zonas correspondientes a la parte principal del tubo estaba degenerado con abundantes depósitos grasos, y en diversos sitios podían demostrarse su desprendimiento en forma de cilindros.

Las lesiones encontradas en las ratas 109 y 111, aunque claras, eran menos marcadas.

En el resto de los animales no hemos podido hallar alteraciones renales definidas más que en el núm. 113 que presentaba diversos focos de infiltración leucocitaria y el núm. 108 en el que los núcleos de las zonas correspondientes al asa de Henle tenían pipicnosis.

Las determinaciones de cloro en la sangre de estos animales demostró la existencia de una hipocloremia en las ratas núms. 109, 111, 114 y 118, es decir, *precisamente en las que se encontró la lesión renal* objeto de nuestro estudio (cuadro núm. 5).



Figura 8

Lesiones renales en las ratas sometidas a una dieta carente de vitaminas A, D, y complejo B. (Rata n.º 111)

T A B L A V I

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE ANIMALES TESTIGOS. (1)

R A T A N.º	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	74	75
Antes de la dieta carencial	375	374			322	389		293	301	303		316	317		320
A los 10 días de la dieta	376			310	329		314			315		325	316		313
A los 20 días de la dieta	321	379	312	311		298	319	305	309	317	323		307	309	315
A los 30 días de la dieta	370	325	316	310	317	299		308	310	301		327	311		
A los 40 días de la dieta		320	323		313	307	292	311	300			320	324		312

(1) Miligramos de Cl. por 100 cc. de sangre

Lote núm. 6: Testigos.— Alimentados con dieta base a la que se adicionaba levadura de cerveza y aceite de hígado de pescado en las proporciones anteriormente citadas.

Los animales no presentaron sintomatología particular en ningún caso y únicamente podemos apreciar por el estudio de la curva de peso que su desarrollo fué lento, en particular en los animales 64, 65, 67 y 68 (fig. 10). Las cifras de cloro en sangre se agrupaban en el cuadro 6. El estudio histológico no reveló la presencia de alteraciones renales en ningún caso.

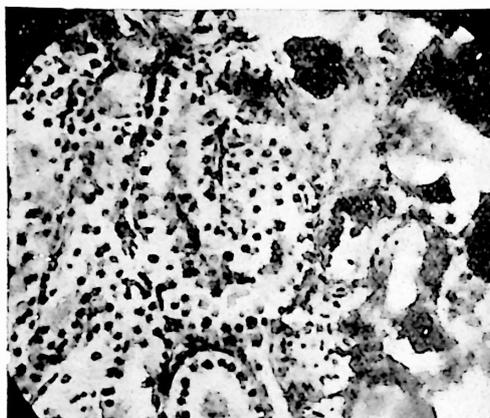


Figura 10

Comentarios

Como era de esperar, no encontramos el tipo de lesión descrito al principio de nuestro trabajo en ninguna de las avitaminosis experimentales puras. Entre éstas, únicamente la avitaminosis A da lugar a depósitos cálcicos en el riñón, pero con características completamente diferentes. Se ven pequeños depósitos de sales cálcicas que infiltran secundariamente los focos cicatriciales de los abscesos tan característicos de esta avitaminosis.

Tampoco encontramos las mencionadas alteraciones en el riñón de las ratas sometidas a una carencia de B₁.

A la vista de nuestros resultados es evidente la relación existente entre la hipocloremia y la lesión renal. Todos los animales que presentan este tipo de lesión acusan una marcada hipocloremia (lote 5). ¿Cuál puede ser la causa de esta hipocloremia? La simple caren-

TABLA VII

CONTENIDO EN CLORO DE LA SANGRE DE RATAS
A LAS QUE SE HABIA PROVOCADO DIARREA

RATA N.º	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210
Antes de la dieta carencial mgrs. ‰	320	290			299	303	288		309	332	295
A los 10 días de la carencia	283		275	209	215	243		212	198	240	293

cia no parece ser causa determinante, puesto que de 15 animales sometidos a la dieta, únicamente padecen la lesión renal cuatro animales. Como por otra parte estos cuatro animales sufrían inten-

sa diarrea, creímos ver en esto la causa de tal disminución del cloro sanguíneo. Si la diarrea era capaz de producir hipocloremia bien podía haber sido esta la causa de la lesión descrita por Rodríguez Candela y Martínez Pérez en el beri-berí experimental de la rata.

Hemos de hacer notar que es precisamente en los animales que no presentaron sintomatología carencial de ningún tipo en los que pudimos demostrar la hipocloremia y las diarreas; y también que aunque presentaron diarreas los animales 101, 111, 112, 114, 118 y 119, ni el 112 ni el 119 padecieron la lesión renal; pero tampoco mostraron hipocloremia.

Con la finalidad de comprobar si efectivamente la diarrea era capaz de producir hipocloremia llevamos a cabo una serie de experimentos en los que estudiamos el cloro sanguíneo en ratas a las que artificialmente se les producía diarreas. Esto se hizo añadiendo a la dieta sulfato magnésico en grandes cantidades (entre 200 y 500 mgrs. al día.) Mantenido con esta alimentación durante diez días, durante los cuales todos los animales tuvieron intensa diarrea, y comprobada la existencia de hipocloremia en la mayor parte de los mismos (los detalles pueden verse en el cuadro núm. 7) los animales fueron sacrificados y su riñón estudiado histológicamente. En los animales núms. 203, 204, 205, 207, 208 y 209 apreciamos una lesión típica consistente en una intensa degeneración nuclear de células correspondientes a los tubos colectores: estas células, como podemos ver en la microfotografía número 11, exhiben un núcleo picnótico y su protoplasma es asiento de intensa degeneración albu-minosa. Es de señalar que los animales con lesiones han sido precisamente aquellos en los que la hipocloremia fué más marcada. No

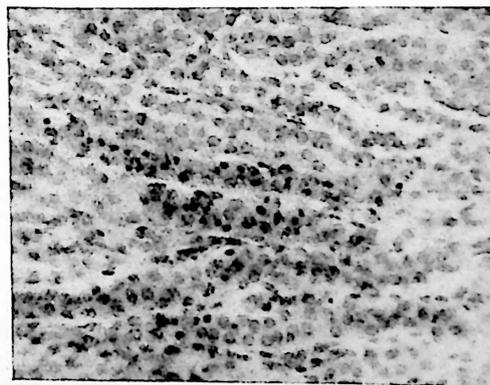


Figura 11

podimos evidenciar los depósitos de sales de cal en la luz tubular que habíamos visto en las ratas con hipocloremia del lote núm. 5. Suponemos que ello es debido al menor tiempo de actuación del agente determinante: es decir, de la hipocloremia. Esto nos hace suponer igualmente que la lesión epitelial que tan claramente exponemos sea la lesión primaria y que los depósitos cálcicos que caracterizan el cuadro histológico de los casos más avanzados tengan lugar secundariamente; sin embargo, una afirmación de tal índole requiere investigaciones más detalladas que continuamos.

Resumen

Se demuestra que las *lesiones renales* especiales encontradas por otros autores, en diversas circunstancias, y por nosotros mismos en las ratas sometidas a diversas dietas carenciales es *debido a la existencia de una hipocloremia*.

La hipocloremia que sufren estos animales se deben a las diarreas que complican los resultados experimentales.

Summary

It has been shown that the special renal lesions found by other authors in diverse circumstances and by ourselves in rats submitted to diverse deficient diets are due to the existence of a hypochloremia. The hypochloremia which these animals suffer from, is caused by the diarrhoeas that complicate the experimental results.

Bibliografía

1. Borts: *Z. Klin. Med.*, **117**, 55 (1931).
2. Brown, Eustermann, Rowntree: *Arch. Int. Med.*, **31**, 425 (1923).
3. Hoff: *Deutsche Med. Wochschr.*, **48** (1932).
4. Hatano: *Beitr. path. Anat.*, **102**, 316 (1939).
5. Martínez Pérez, Rodríguez Candela: *Rev. Clin. Esp.*, **1**, 158, (1940).
6. Patterson, en Peters y Van Slyke: "Quantitative Clinical Chemistry", Londres, 1932.
7. Pérez Castro: *Semana Médica Española*, 1940, p. 1.016.
8. Rohland: *Klin. Wochschr.*, **23**, 825 (1936).
9. Tschilow, Comfort: *Arch. Inter. Med.*, **14**, 620 (1914).
10. Zeeman, Friedmann, Mann: *Proc. N. Y. Path. Soc.*, **24**, 41 (1924).