

Facultad de Ciencias Médicas “Celia Sánchez Manduley”, Filial Bayamo

Marcadores bioquímicos del estrés oxidativo en pacientes hipertensos esenciales no tratados

Lic. Elio Cruz Manzano, Lic. Dellis Espinosa Pérez, Lic. Pablo Bahr Valcárcel y Dra. Loida Sanfiel Vasseur

RESUMEN

Se realizó una caracterización nutricional antropométrica y dietética con el objetivo de determinar la existencia de estrés oxidativo en pacientes hipertensos esenciales no tratados del sexo masculino, se estudiaron 20 hipertensos y 25 normotensos. Se determinó la concentración de colesterol total, triacilglicéridos, el potencial reductor férrico y la concentración de malondialdehído en el suero sanguíneo, así como la concentración de glutatión reducido y la actividad de la Cu,Zn superóxido dismutasa en eritrocitos. Se mostró que los pacientes hipertensos estudiados tuvieron una concentración significativamente menor de glutatión reducido y más baja actividad de la superóxido dismutasa que los sujetos normotensos. No se encontró diferencia significativa de los valores del potencial reductor férrico entre los grupos, sin embargo, se constató un aumento de la concentración de malondialdehído en los hipertensos. Se concluyó que en los hipertensos esenciales estudiados existe un incremento en los valores de los indicadores de daño oxidativo y una disminución del estado de las defensas antioxidantes, lo que evidencia una situación de estrés oxidativo.

Palabras clave: Estrés oxidativo, antioxidantes, hipertensión esencial, biomarcadores.

Los organismos aerobios poseen sistemas de defensa antioxidante que interactúan con las especies reactivas (ER) producidas en la respiración y otros procesos oxidativos. Bajos niveles de especies reactivas son indispensables para el funcionamiento del organismo humano, sin embargo, altas dosis o la remoción inadecuada especialmente el radical anión superóxido (O_2^-), resulta en un estrés oxidativo, el cual ha sido implicado en la patogénesis de la hipertensión arterial esencial (HTA esencial).¹

Se ha demostrado que en humanos hipertensos esenciales se incrementa la producción de especies reactivas (ER), especialmente del radical anión superóxido, que las ER inducen lipoperoxidación y aumentan la relación disulfuro/sulfhidrilo.²

El glutatión reducido (GSH), cosustrato de la glutatión peroxidasa (GSH-Px) y de la glutatión-S-transferasa, es responsable de la protección de los tioles celulares de la oxidación, mientras que la superóxido dismutasa (SOD) participa en la remoción del O_2^- .² Se ha afirmado que la Cu,Zn SOD es clave en la protección de la pared vascular contra los oxidantes.³ También se informó que los niveles de GSH disminuyen en los pacientes hipertensos, en los cuales se incrementa la lipoperoxidación.² El objetivo del

trabajo fue determinar la existencia de estrés oxidativo en pacientes hipertensos esenciales no tratados del sexo masculino.

MÉTODOS

Se realizó un estudio transversal. La muestra estuvo representada por 45 individuos, 25 sujetos conformaron el grupo control y 20 pacientes hipertensos esenciales el experimental. Los pacientes hipertensos fueron diagnosticados, de acuerdo con los criterios y las normas establecidas en el Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico y Control de la Hipertensión Arterial (Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico, Evaluación y Control de la Hipertensión Arterial. Octubre de 2004). Fueron excluidos del estudio los pacientes con algún antecedente de enfermedad crónica asociada a la HTA esencial y los fumadores. Los sujetos normotensos fueron clínicamente sanos y no fumadores.

Para la evaluación antropométrica se determinó el índice de masa corporal (IMC) y se midió la cintura abdominal. Las mediciones fueron realizadas mediante las técnicas recomendadas por el Programa Biológico Internacional.⁴ El IMC (kg/m^2) se usó para determinar el estado nutricional, se consideró sobrepeso de 25,0 a 30,0 kg/m^2 y obesidad por encima de 30,0 kg/m^2 .⁵ Como punto de corte de riesgo de obesidad abdominal se consideró un valor superior a 102 cm (Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico, Evaluación y Control de la Hipertensión Arterial. Octubre de 2004).

La evaluación dietética se realizó mediante una encuesta semicuantitativa de frecuencia de consumo de alimentos. Los datos fueron transformados en término de consumo diario de energía y nutrientes, y se calcularon los porcentajes de adecuación, todo por medio del programa computadorizado CERES (FAO. CERES. Sistema automatizado para la evaluación del consumo de alimentos. FAO. 1997-2001).

En el suero se determinaron las concentraciones de colesterol y triacilglicéridos por métodos enzimáticos (Kits HELFA DIAGNÓSTICOS, Cuba) del malondialdehído (MDA), según la técnica descrita por *Buege y Aust*,⁶ así como el potencial reductor férrico (FRP) de acuerdo con el ensayo de *Bahr y Basalto* (Bahr P, Basulto Y. El Potencial Reductor Férrico. Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero. Revista Correo Científico Médico de Holguin 2004;8[4]). En eritrocitos se determinó la actividad de la enzima Cu,Zn SOD, según *Marklund y Marklund*,⁷ y la concentración de GSH por el método colorimétrico de *Beutler*.⁸ La razón entre la concentración de MDA y GSH se utilizó como indicador del estado de las defensas antioxidantes de los eritrocitos.⁹

Para el análisis estadístico se utilizó el paquete SPSS (versión 11.5.1 para Windows). Se utilizó la prueba t de Student para comparar medias cuando las variables presentaron distribución normal, y la prueba no paramétrica de Mann-Whitney cuando las variables no siguieron una distribución normal. En todos los casos el nivel de significación se fijó para $p < 0,05$.

RESULTADOS

Las características de los pacientes y sujetos controles se muestran en la tabla 1. Los grupos fueron homogéneos en cuanto a la edad. Se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) para los valores de colesterol total, con predominio de mayor concentración en los pacientes hipertensos, sin embargo, solo un poco más de 5 % de los normotensos y de 10 % de los hipertensos presentaron valores superiores al límite fisiológico (fig. 1). No se encontró diferencia significativa de los valores de triacilglicéridos entre los grupos, no obstante, cerca de 50 % de los normotensos y más de 75 % de los hipertensos tuvieron valores superiores al límite fisiológico (Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico, Evaluación y Control de la Hipertensión Arterial. Octubre de 2004) (fig. 2).

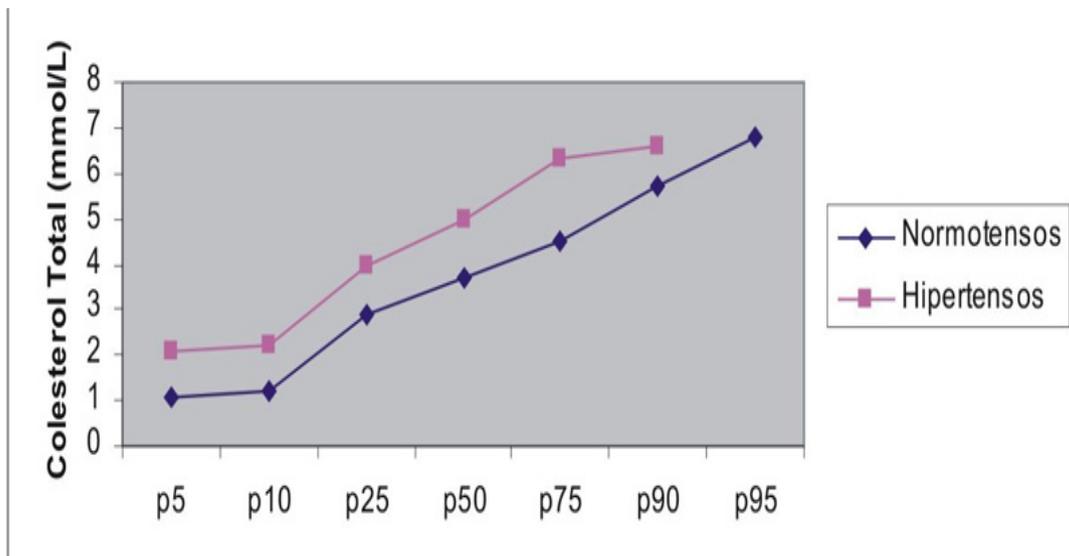


Fig. 1. Distribución de frecuencia para las concentraciones de colesterol total en suero según percentiles.

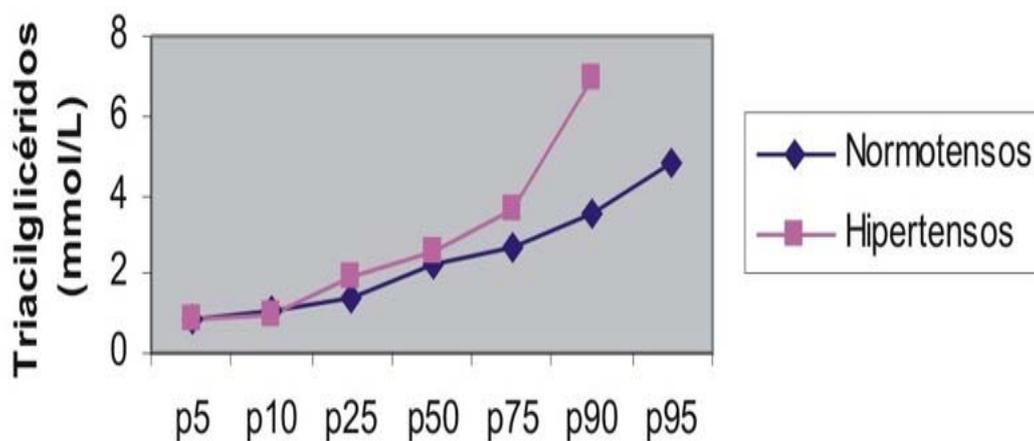


Fig. 2. Distribución de frecuencia para las concentraciones de triacilglicéridos séricos según percentiles.

Al utilizar el IMC como medida para caracterizar el estado nutricional antropométrico (tabla 1), se encontró diferencia significativa ($p < 0,05$) a favor de los pacientes hipertensos. Más de 50 % son obesos y más de 75 % son sobrepesos (fig. 3). Se halló también diferencia significativa ($p < 0,05$) a favor de los hipertensos en cuanto a la cintura abdominal (tabla 1). Sin embargo, los valores de este indicador están en más de 75 % de los hipertensos y en más de 90 % de los normotensos por debajo del valor de riesgo de obesidad abdominal (fig. 4).⁴

Tabla 1. Características generales del grupo control y experimental

Variable	Normotensos		Hipertensos		Significación
	N=25		N=20		
	Media	DE	Media	DE	
Edad (años)	40,08	5,31	40,95	2,37	ns
IMC (kg/m ²)	26,12	3,45	29,56	5,32	$p < 0,05$
Cintura abdominal (cm)	88,68	8,16	95,75	10,70	$p < 0,05$
PAS (mm de Hg)	118,06	5,77	139,00	13,72	$p < 0,001$
PAD (mm de Hg)	78,80	5,26	100,00	12,14	$p < 0,001$
Colesterol total (mmol/L)	3,77	1,64	4,82	1,51	$p < 0,05$
TAG (mmol/L)	2,26	0,91	2,99	2,51	ns

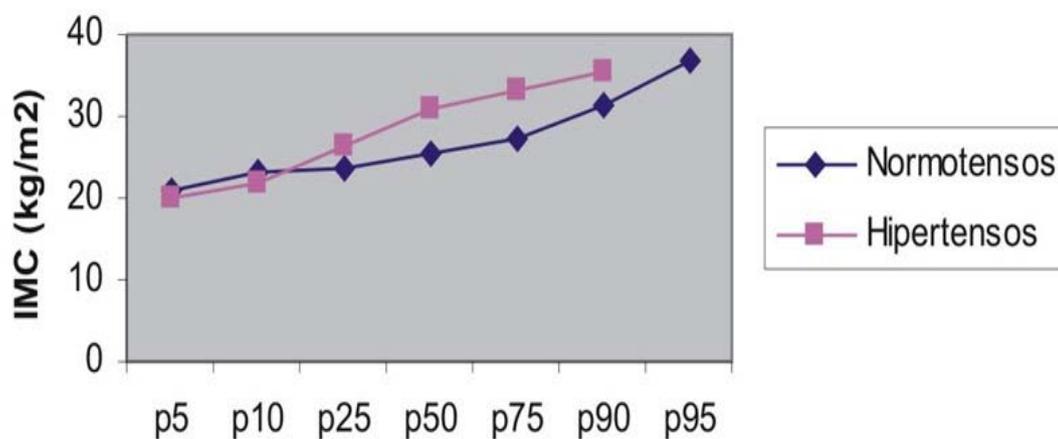


Fig. 3. Distribución de frecuencia para el IMC según percentiles.

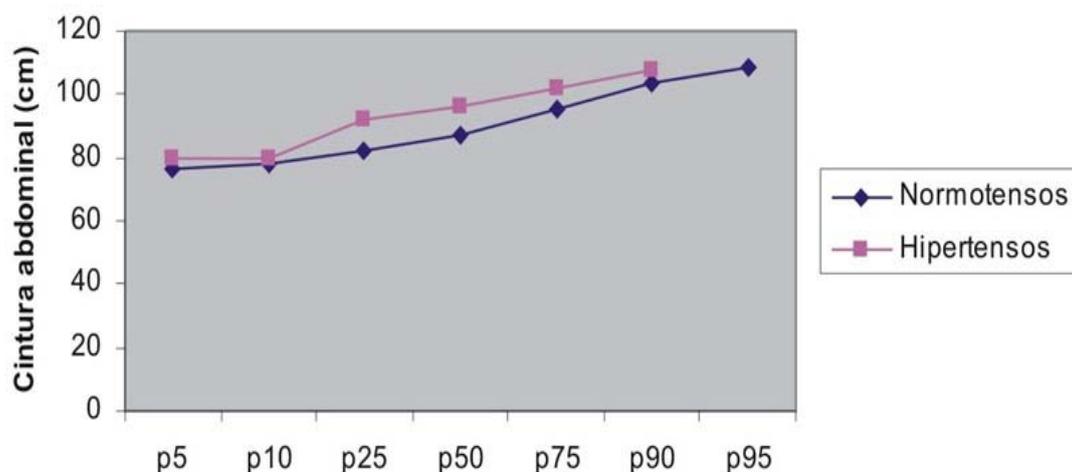


Fig. 4. Distribución de frecuencia para la cintura abdominal según percentiles.

No se encontró diferencia estadísticamente significativa para el consumo de energía, ni para el consumo de ninguno de los nutrientes (tabla 2). Los porcentajes de adecuación, con excepción de los de la vitamina C, el cobre y la vitamina A, son muy bajos. Sin embargo, es interesante destacar que las adecuaciones para los nutrientes con capacidad antioxidante, son superiores en el grupo de pacientes hipertensos. El porcentaje de adecuación más bajo es el del zinc.

Tabla 2. Consumo y adecuación de energía y nutrientes en el grupo control y experimental

Nutrientes	Normotensos			Adecuación	Hipertensos			Adecuación
	N=25				N=20			
	X	±	DE	%	X	±	DE	%
Energía (kcal)	1580,19	±	382,09	60,5	1563,60	±	543,06	59,9
Proteínas (g/d)	53,51	±	16,53	68,6	50,56	±	18,97	64,8
Lípidos (g/d)	50,31	±	18,72	62,1	58,07	±	27,59	71,7
Glúcidos (g/d)	228,93	±	60,92	58,4	200,60	±	95,10	51,2
Vitamina A (µg/d)	583,63	±	372,10	72,9	592,75	±	280,82	74,1
Carotenos (µg/d)	2142,90	±	1756,87	66,9	2347,19	±	1295,57	73,3
Vitamina E (mg/d)	5,66	±	1,42	56,6	6,40	±	2,62	64,0
Vitamina C (mg/d)	97,57	±	40,39	162,6	133,43	±	97,50	222,4
Cobre (mg/d)	1,76	±	0,69	88,0	1,73	±	1,12	86,5
Zinc (mg/d)	8,08	±	2,25	53,8	7,21	±	2,58	48,1

La concentración eritrocitaria de GSH en el grupo de pacientes hipertensos fue significativamente menor ($p < 0,05$) que la de sujetos del grupo control. No se encontró diferencia significativa entre los grupos en cuanto a los valores del FRP. La actividad de la enzima Cu,Zn SOD fue significativamente inferior ($p < 0,05$) en el grupo de pacientes

hipertensos, mientras que los valores de MDA, así como los de la razón de las concentraciones de MDA y GSH fueron significativamente superiores ($p < 0,001$) en estos (tabla 3).

Tabla 3. Marcadores bioquímicos de defensa antioxidante y de daño oxidativo en el grupo control y experimental

Marcador	Normotenso		Hipertenso		Significación
	N=25		N=20		
	Media	DE	Media	DE	
GSH (mmol/g Hb)	8,60	1,70	7,48	1,56	$p < 0,05$
FRP (mmolFe ²⁺ /L)	913,55	187,80	946,02	117,07	ns
SOD (U/gHb)	275,55	62,28	234,62	72,65	$p < 0,05$
MDA (mmol/L)	0,54	0,21	1,24	0,68	$p < 0,001$
MDA/GSH	0,06	0,02	0,17	0,11	$p < 0,001$

DISCUSIÓN

La obesidad, que emerge como una epidemia en los últimos años es considerada como un determinante patogénico de interés para el desarrollo de la HTA y la enfermedad cardiovascular (Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico, Evaluación y Control de la Hipertensión Arterial. Octubre de 2004). Por su parte, el colesterol total y los triacilglicéridos se asocian positivamente con la adiposidad y la distribución centralizada de la grasa, y permiten demostrar las alteraciones metabólicas vinculadas a esta,¹⁰ tal como el estrés oxidativo y la HTA esencial.¹¹ Los resultados encontrados en el presente trabajo confirman estas aseveraciones.

Hasta el presente se ha considerado ofrecer a los pacientes hipertensos algunas recomendaciones nutricionales, que incluyen el consumo de frutas, vegetales y granos con un elevado contenido de antioxidantes, como son vitamina C, E y flavonoides (Ministerio de Salud Pública. Programa Nacional de Prevención, Diagnóstico, Evaluación y Control de la Hipertensión Arterial. Octubre de 2004).¹² En comparación con los sujetos normotensos, los pacientes hipertensos hicieron un mejor consumo de nutrientes con capacidad antioxidante, sin embargo, todavía está por debajo de los requerimientos establecidos en Cuba y los sugeridos por otros autores para reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.¹³

Los valores significativamente inferiores de GSH en el grupo de pacientes hipertensos en comparación con los normotensos estudiados concuerda con lo informado por varios autores.^{14,15} Con respecto al FRP se ha informado que en los pacientes hipertensos esenciales estos valores están disminuidos.^{1,15} Los resultados aquí obtenidos no confirman esos hallazgos. El FRP es un indicador directo del estado antioxidante, sin embargo, sus valores están influenciados por la dieta (Bahr P, Basulto Y. El Potencial Reductor Férrico (FRP). Un ensayo para evaluar la capacidad antioxidante en suero.

Revista Correo Científico Médico de Holguin 2004;8[4]). Los pacientes hipertensos estudiados tuvieron un mejor consumo de nutrientes con capacidad antioxidante, sobre todo de vitamina C y carotenoides, lo que a nuestro juicio puede explicar los resultados de este biomarcador en ellos.

Resultados similares, en cuanto a la actividad de la Cu, Zn SOD, se han informado en otros estudios.^{15,16} Se ha planteado que el incremento de las ER puede sobreexpresar enzimas antioxidantes como la SOD extracelular,¹⁷ pero también conducir a la disminución de la actividad de ellas, tal y como se afirma para el caso de la Cu,Zn SOD y de la SOD extracelular.¹⁶

Los datos obtenidos muestran que los pacientes hipertensos presentaron un incremento en la concentración de MDA, esto demuestra un aumento de la lipoperoxidación inducida por las ER, lo cual ha sido informado en otros trabajos.^{1,15} Los valores significativamente superiores de la razón entre la concentración de MDA y GSH eritrocitario de los pacientes hipertensos en comparación con los controles indican que en los primeros las defensas antioxidantes son inadecuadas en los eritrocitos, tal y como afirman algunos autores.⁹

Los resultados del trabajo permiten concluir que en los pacientes hipertensos esenciales estudiados existe un incremento en los valores de los indicadores de daño oxidativo y una disminución del estado de las defensas antioxidantes, lo que evidencia una situación de estrés oxidativo.

Biochemical markers of the oxidative stress in untreated patients with essential hypertension

SUMMARY

A dietary and anthropometric nutritional characterization was made to determine the oxidative stress in untreated male patients with essential hypertension. Twenty hypertensive and 25 normotensive patients were studied. The concentration of total cholesterol, triacylglycerides, iron reducing potential and the concentration of malondialdehyde in blood serum as well as concentration of reduced glutathion and the action of Cu, Zn superoxide dismutase in erythrocytes were determined. It was observed that studied hypertensive patients had a significantly lower concentration of reduced glutathion and lower dismutase superoxide activity than normotensive subjects. There was no significant difference in iron reducing potential among the groups; however, there was an increase in malondialdehyde concentration in hypertensive patients. It was concluded that the studied subjects with essential hypertension experienced increased values of oxidative stress indicators and decrease of antioxidant defenses, which showed the presence of oxidative stress.

Key words: Oxidative stress, antioxidants, essential hypertension, biomarkers.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kashyap MK, Yadav V, Sherawat BS, Jain S, Kumari S, Khullar M, Sharma PC, Nath R. Different antioxidants status, total antioxidant power and free radicals in essential hypertension. *Mol Cell Biochem* 2005;277(1-2):89-99.
2. Kedziora-Kornatowska K, Czuczejko J, Pawluk H, Tomasz Kornatowski M, Szadujkis-Szadurski L, Szewczyk-Golec C, Kedziora J. The markers of oxidative stress and activity of antioxidant system in the blood of elderly patients with essential hypertension. *Cell Mol Biol Lett* 2004;9(4A):636.
3. Sato M, Yanagisawa H, Nojima Y, Tamura J, Wada O. Zn deficiency aggravates hypertension in spontaneously hypertensive rats: possible role of Cu/Zn-superoxide dismutase. *Clin Exp Hypertens* 2002;24(5):355-70.
4. Weiner J, Lourie J. *Human Biology. A Guide to field methods.* Oxford: Blackwell Scientific Publications Ed.; 1969.
5. Berdasco A, Romero JM. Analysis and interpretation of Cuban adult anthropometry based on some classification variables. Roma: FAO; 1992. p. 98-101. (Nutrition Consultant Report Series).
6. Buege J, Aust D. Microsomal Lipid Peroxidation. *Methods Enzymol* 1978;12:302-10.
7. Marklund S, Marklund G. Involvement of superoxide anion radical in autoxidation of pirogallol as a convenient assay for superoxide dismutase. *Eur J Biochem* 1974;47:469-74.
8. Beutler E, Duron O, Nelly B. Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963;61:882-90.
9. Gulnur A, Lale K, Arzu S, Faruk A, Nacati S, Gulden B. Biochemical evaluation of oxidative stress during exercise patients with coronary heart disease. *Clin Chem Lab Med* 2001;39(3):233-4.
10. Hermelo TM, Amador GM. Métodos para la evaluación de la composición corporal en humanos. Indicadores bioquímicos para la evaluación del estado de nutrición. La Habana: Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos; 1996. p. 115.
11. Krouf D, Bouchenak M, Mohammedi B, Cherrad A, Belleville JL, Prost JL. Changes in serum lipid and antioxidant status in west Algerian patients with essential hypertension treated with acetobutol compared to healthy subjects. *Med Sci Moni* 2003;9(8):109-15.
12. Digiesi V. Prospects for the use of antioxidant therapy in hypertension. *Ann Ital Med Int* 2001;16(2):93-100.
13. Diplock AT. Antioxidant and disease prevention. In *Molecular Aspects of Medicine.* vol.15. Baum H ed. Oxford and New York: Pergamon Press; 1994. p. 259.
14. Simic DV, Mimic-Oka J, Pliesa-Ercegovac, M, Savic-Radojevic A, Opacic M, Matic D, Ivanovic B, Simic T. Byproducts of oxidative protein damage and antioxidant enzyme activities in plasma of patients with different degrees of essential hypertension. *J Hum Hypertens* 2006;20(2):149-55.
15. Redon J, Oliva M, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, et al. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertens* 2003;41(5):1096.
16. Simic D, Perunicic J, Lasica R, Ivanovic B, Martic D, Kalimanovka-Ostic D, et al. Plasma and red blood cell superoxide dismutase activity in patients with different stages of essential hypertension. *Med Arh* 2005;59(3):156-9.
17. Tohru F, Folz RJ, Landmesser U, Harrison D. Extracellular superoxide dismutase and cardiovascular disease. *Cardiovascular Res* 2002;55:239-49.

Recibido 10 de febrero de 2007. Aprobado: 13 de marzo de 2007.
Lic. *Elio Cruz Manzano*. Facultad de Ciencias Médicas “Celia Sánchez Manduley”.
Filial Bayamo. Carretera a Santiago de Cuba Km 3 ½, Bayamo. CP 85100. Granma,
Cuba. Correo electrónico: ecruz@filial.grm.sld.cu