



ORIGINAL

Efecto del telmisartán en el estrés oxidativo y actividad antioxidante en leucocitos de sangre periférica de pacientes hipertensos

Manuel Labiós^a, Marcial Martínez^{b,*}, Francisco Gabriel^a, Victoria Guiral^a
y Blanca Navarro^c

^a Unidad de Hipertensión, Servicio de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario, Valencia, España

^b Unidad de Citometría de Flujo, Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Universitario La Fe, Valencia, España

^c Servicio de Hemato Oncología, Hospital Clínico Universitario, Valencia, España

Recibido el 19 de octubre de 2010; aceptado el 24 de febrero de 2011

PALABRAS CLAVE

Telmisartán;
Estrés oxidativo;
Actividad
antioxidante;
Leucocitos;
Hipertensión

Resumen

Introducción: Se han determinado el estrés oxidativo y la actividad enzimática antioxidante en leucocitos de pacientes hipertensos inmediatamente antes de iniciar el tratamiento con 80 mg/día de telmisartán y después de 2 meses de instaurada la medicación. Adicionalmente se ha valorado en paralelo un grupo control.

Material y métodos: Como marcador de estrés oxidativo, se ha determinado el potencial de membrana mitocondrial ($\psi\Delta$) en leucocitos. La actividad antioxidante se ha determinado midiendo la actividad superóxido dismutasa y catalasa en lisados leucocitarios.

Resultados: Nuestros resultados muestran mayor estrés oxidativo y mayor actividad antioxidante en los pacientes en situación basal que en los controles. Estos resultados sugieren que la hipertensión se asocia con una situación de estrés oxidativo, con adaptaciones de mecanismos antioxidantes, con el fin de contrarrestar los efectos negativos de la oxidación. Probablemente el sistema antioxidante celular defensivo posee capacidad de adaptación al efecto del estrés oxidativo que acompaña a la hipertensión. Así pues, en esta patología observamos un aumento de estrés oxidativo, que no puede ser atribuido a un defecto del sistema antioxidante.

Conclusiones: Puede especularse que cuando el estrés oxidativo es mayor, la célula genera una mayor actividad antioxidante. Después de dos meses de tratamiento con telmisartán, las cifras tensionales disminuyen junto al estrés oxidativo de los leucocitos. En paralelo, se observa una disminución del sistema de antioxidante. Dicho descenso parece indicar que la célula no necesita tanta actividad antioxidante cuando la hipertensión se normaliza.

© 2010 SEHLELHA. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: marmarsil7@hotmail.com (M. Martínez).

KEYWORDS

Telmisartan;
Oxidative stress;
Antioxidant activity;
Leukocytes;
Hypertension

Effects of telmisartan on oxidative stress and antioxidant activities in peripheral leukocytes from hypertensive patients**Abstract**

Introduction: Oxidative stress and antioxidant activity were determined in leukocytes from 30 hypertensive patients prior to telmisartan treatment and at two months. A control group was evaluated in parallel.

Material and methods: Mitochondrial membrane potential ($\Delta\psi$) in leukocytes was evaluated as a marker of oxidative stress. The antioxidant activity was determined by measuring superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activity in leukocyte lysates.

Results: Our results demonstrate enhanced oxidative stress in hypertension as indicated by their increased mitochondrial membrane potential. Activities of leukocyte antioxidant enzymes were also higher in patients at baseline. These results indicate that hypertension leads to oxidative stress with antioxidant enzyme adaptations in order to avoid the negative effect of the oxidation. It is likely that the cellular antioxidant defense systems are capable of adapting to the chronic oxidative stress associated to hypertension. Our observations indicate that there is an increase in oxidative stress that cannot be attributed to a defect in the antioxidant system.

Conclusions: It can be speculated that when oxidative stress is greater, the cell generates higher antioxidant activity as a defense mechanism. After two month of treatment with telmisartan, hypertension and leukocyte oxidative stress were decreased. Parallely, a decrease was observed in the antioxidant defense system. This decline suggests that the cells do not need as much antioxidant activity when blood pressure is normalized.

© 2010 SEHLELHA. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La presencia de estrés oxidativo, o un desequilibrio entre oxidación y capacidad antioxidativa, puede desempeñar un papel importante en la iniciación de las principales complicaciones de la hipertensión arterial (HTA).

En una publicación previa de nuestro grupo, se comunicó que los pacientes hipertensos sin tratamiento farmacológico mostraban, en leucocitos de sangre periférica, mayor estrés oxidativo que el grupo control normotenso¹. En un trabajo posterior se describió que los leucocitos de los pacientes hipertensos, en situación basal, presentaban mayor actividad antioxidante que los controles². Tales anomalías tendían a normalizarse tras 2 meses de tratamiento con eprosartán (un antagonista del receptor tipo 1 de la angiotensina II). Sin embargo, en cada uno de estos trabajos se había valorado un solo brazo de la balanza del sistema oxidativo. Quedaba, pues, planteada la duda razonable de si los hechos descritos hubieran sido igualmente observados en un estudio longitudinal, con una misma muestra, en la que se determinaran simultáneamente el estrés oxidativo y la actividad antioxidante. Además, también se planteaba la pregunta de si los efectos descritos eran privativos del eprosartán o si, por el contrario, otros fármacos de la familia «sartán», tales como el telmisartán, también podían ejercerlos.

Está bien establecido que la disfunción endotelial, que se observa ya en los primeros estadios de la enfermedad hipertensiva, si se hace crónica, produce cambios en la estructura vascular, con aumento de adhesividad de plaquetas y leucocitos, iniciando el proceso aterotrombótico. Un paso clave en este proceso es la activación del estrés oxidativo por la angiotensina II. Se ha descrito que la angiotensina II estimula la NADPH/NADH-oxidasa en el endotelio, en la musculatura

lisa y en la adventicia de los vasos, generando especies de oxígeno reactivo (ROS) y estrés oxidativo, que ocasionan disfunción endotelial e inflamación^{3,4}.

El estrés oxidativo que se observa en la HTA puede afectar la actividad de los leucocitos polimorfonucleares⁵. La degranulación de estos PMN, consecuencia de su activación, se acompaña de la liberación de proteasas, citocinas y ROS, y se correlaciona con la concentración de Ca^{2+} libre citoplasmático intracelular⁶. La concentración de dicho ión es la clave que regula la producción de oxidantes por los PMN y la degranulación que, a su vez, produce aumento de la hipertensión, donde otros tipos de células también presentan concentraciones elevadas de Ca^{2+} libre citoplasmático^{7,8}.

En condiciones fisiológicas, el endotelio regula la dilatación vascular, previene la adhesión y activación plaquetaria, bloquea la formación de trombina, y disminuye la deposición de fibrina, la expresión de moléculas de adhesión, la activación de leucocitos y el estrés oxidativo. Este complejo mecanismo regulador se altera cuando el endotelio es perturbado funcionalmente por un proceso inflamatorio agudo o crónico, tal como sucede en la HTA, donde se observa una biodisponibilidad disminuida de NO en la pared arterial, que se acompaña de la producción de ROS. Esta situación puede considerarse un estado protrombótico y proinflamatorio, caracterizado por vasoconstricción, activación, adhesión y agregación de plaquetas y reclutamiento de leucocitos en la pared del vaso⁹.

En el desarrollo de la aterosclerosis no sólo están implicadas las células intrínsecas de la pared arterial, sino también los leucocitos circulantes¹⁰. La activación de estas células aumenta la generación de ROS y el estrés oxidativo. Diversos estudios sugieren que el estrés oxidativo inducido por los ROS se ve reforzado cuando coexiste un defecto en los

sistemas de protección antioxidante¹¹. Aunque se ha descrito que la HTA se asocia a un aumento del estrés oxidativo en granulocitos y monocitos, existiendo asociación entre las cifras de tensión sanguínea y dicho estrés¹², no está bien establecido si los pacientes hipertensos presentan, o no, una disminución del sistema enzimático antioxidante, ni tampoco si los antagonistas del receptor tipo 1 de la angiotensina II (ARA-II) ejercen algún efecto en dicho sistema.

Es sabido que el estrés oxidativo puede deberse a una sobreproducción de productos oxidantes o a que el sistema antioxidante enzimático de defensa ha sido sobrepasado. Este sistema enzimático actúa para eliminar el exceso de oxidantes y está constituido fundamentalmente por la SOD y la CAT, que suponen el mecanismo fundamental de defensa celular contra el estrés oxidativo.

Dada la escasa información acerca de la activación de leucocitos, como consecuencia del estrés oxidativo asociado a la HTA, y de la acción de los fármacos hipotensores sobre dicha disfunción, parece necesario investigar los mecanismos por los que la HTA modifica el comportamiento de las células circulantes y favorece el desarrollo del proceso aterosclerótico. El conocimiento de estos mecanismos, tal como se estudia en el presente trabajo, podría facilitar el establecimiento de las medidas terapéuticas más apropiadas.

Pacientes y métodos

En el presente estudio piloto prospectivo observacional se ha valorado a 30 pacientes (12 mujeres y 18 varones, edad $52,6 \pm 10,5$ años, índice de masa corporal $27,40 \pm 3,54$ kg/m²) con HTA esencial tipo 1-2 según clasificación de la WHO (presión sistólica de 140 a 189 mmHg, o diastólica de 90 a 109 mmHg), sin patología renal, hepática o cardíaca, después de un período de 2 semanas sin tratamiento farmacológico y con dieta adecuada (restricción moderada de sal y limitación de calorías en los pacientes con sobrepeso). Tres de los pacientes eran diabéticos y 5 hipercolesterolémicos, controlados mediante tratamiento farmacológico. Ninguno de los pacientes relataba historia personal de evento trombotico previo (cardiopatía, ictus, AOMI). Los pacientes se estudiaron en situación basal (inmediatamente antes de empezar la medicación) y a los 2 meses de iniciado el tratamiento (80 mg/día de telmisartán en dosis única). A lo largo del estudio los pacientes mantuvieron su dieta y estilo de vida habitual.

El grupo control consistió en el mismo número de voluntarios normotensos comparables en edad ($49,8 \pm 9,9$ años), sexo (15 mujeres y 15 varones) y patologías asociadas (igual prevalencia de diabetes e hiperlipemia que en el grupo de hipertensos). Los pacientes y los controles se valoraron en paralelo, fueron previamente informados y dieron su consentimiento, de acuerdo con las normas del comité ético del Hospital Clínico Universitario.

Métodos

La toma de la presión y la frecuencia cardíaca se realizó mediante medición oscilométrica de la presión arterial y el pulso con un Omron 705CP, tecnología validada según el protocolo de la British Hypertension Society.

Las muestras de sangre se obtuvieron tras 12 h de ayuno. En sangre periférica anticoagulada con K3-EDTA se valoraron el recuento leucocitario, el porcentaje de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos y basófilos y el cociente monocitos/leucocitos por su utilidad clínica como indicador de riesgo de aterosclerosis. Estas determinaciones se efectuaron en un autoanalizador Sysmex modelo XE 2100 (Kobe, Japón).

Los parámetros bioquímicos de rutina se determinaron en suero con un autoanalizador OLYMPUS 5400 (Sunto-gun, Shizuoka-ken, Japón) y los hemostáticos en un autoanalizador ACL 9000 System (Instrument Laboratory, Lexington, MA, EE. UU.). Los parámetros hemostáticos en sangre anticoagulada con citrato, incluyeron la valoración del fibrinógeno, por ser un factor de riesgo independiente de enfermedad cardiovascular.

Tomando como modelo experimental los leucocitos de sangre periférica, se valoró el estrés oxidativo mediante la medida del potencial de membrana mitocondrial. Para ello, una muestra de 10 ml de sangre anticoagulada con K3-EDTA se utilizó para separar los leucocitos mediante la sedimentación a través de Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich), según la técnica descrita por nuestro grupo¹. El número de leucocitos se ajustó a 500.000 células/ml con medio de cultivo RPMI1640 (Gibco, Grand Island, NY, EE. UU.). Posteriormente, los distintos tipos de leucocitos (linfocitos, monocitos y granulocitos) se identificaron y analizaron por citometría de flujo basándose en su morfología y receptores CD específicos (CD3, CD4, CD8, Immunotech, Marsella, Francia) conjugados directamente a los fluorocromos adecuados. Para valorar la activación de estas células se estudió el potencial de membrana mitocondrial ($\psi\Delta$) mediante el ester metílico de la tetrametilrodamina (TMRM), un catión lipofílico fluorescente que se acumula en la mitocondria en proporción a su potencial de membrana, sin inhibir la respiración celular a la concentración utilizada¹³. En resumen, el método consistió en incubar 100 μ l de la suspensión de células en la oscuridad a 37 °C durante 5 min con 10 μ l de CD3.FITC y 5 μ l de CD4-PC5. A continuación, se tomaron dos alícuotas de 50 μ l que se diluyeron hasta 1 ml en tampón HEPES. A uno de los tubos se añadió TMRM a una concentración final 500 nM y se incubó durante 1 h. El potencial de membrana se midió en el citómetro de flujo utilizando el correspondiente protocolo de adquisición de datos. El segundo tubo se utilizó como blanco y el valor de su fluorescencia se restó al del tubo que contenía TMRM.

Los análisis citométricos se realizaron en un citómetro de flujo EPICS XL (Beckman-Coulter, Fullerton, Ca, EE. UU.), tras calibrarlo con Flow-Check Fluorospheres (Beckman-Coulter, Fullerton, Ca, EE. UU.). Los resultados se expresan como unidades arbitrarias de fluorescencia (UAF).

El potencial celular enzimático antioxidante se valoró midiendo en lisados de leucocitos la actividad superóxido dismutasa (SOD) y catalasa (CAT) mediante los métodos espectrofotométricos de Nebot¹⁴ y Kidson¹⁵ respectivamente, descritos en un trabajo anterior de nuestro grupo² y siguiendo las instrucciones del fabricante. Ambas actividades enzimáticas se expresan en unidades por miligramo de proteína, para lo cual también se determinó la concentración de proteínas en los lisados leucocitarios utilizando la técnica de Bradford¹⁶.

Tabla 1 Valor medio, desviación estándar y significación estadística de los parámetros indicados en el grupo control y pacientes hipertensos

	Frecuencia cardíaca (pulsaciones/min)	PA sistólica (mmHg)	PA diastólica (mmHg)
Grupo control N = 30	72,5 ± 12,3	127,4 ± 9,4	80,3 ± 5,3
HT basal N = 30	73,3 ± 6,1NS	154,2 ± 15,7 ^a	99,6 ± 13,7 ^a
HT 2m Tel N = 30	71,2 ± 12,2NS	143,5 ± 16,8 ^b	89,6 ± 13,7 ^c

HT: pacientes hipertensos; m: meses; NS: no significativo; PA presión arterial; Tel: telmisartán.

^ap < 0,001 frente a grupo control.

^bp < 0,05 frente a basal.

^cp < 0,01 frente a basal.

Los valores obtenidos para cada parámetro se expresan como valor medio ± desviación estándar. La significación estadística de las diferencias se valoró mediante la prueba no paramétrica de Wilcoxon y las correlaciones se analizaron con la prueba de Pearson, mediante el programa SPSS (Windows Statistical Software, versión 15.0, Chicago, Illinois, EE. UU.). La significación estadística se estableció para un valor de $p < 0,05$.

Resultados

Parámetros clínicos

Ninguno de los pacientes reclutados tuvo que abandonar el estudio debido a algún efecto secundario atribuible al tratamiento. La **tabla 1** resume los valores correspondientes a las cifras tensionales y frecuencia cardíaca. Como puede observarse, el tratamiento con telmisartán disminuye significativamente la presión arterial sistólica de $154,2 \pm 15,7$ mmHg a $143,5 \pm 16,8$ mmHg ($p < 0,05$). Se observa un mayor efecto del telmisartán en la presión arterial diastólica, que disminuye desde $99,6 \pm 13,7$ mmHg hasta $89,6 \pm 8,9$ mmHg ($p < 0,01$) tras 2 meses de tratamiento. No se aprecian diferencias significativas en los valores correspondientes a la frecuencia cardíaca.

Parámetros bioquímicos

Los parámetros analizados fueron: glucosa, urea, creatinina, sodio, potasio, cloro, bilirrubina, albúmina, ácido úrico, proteínas totales, aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa, gamma-glutamyl transferasa, fosfatasa alcalina, triglicéridos, colesterol total y fraccionado. En general, no se observaron diferencias significativas entre grupos en ninguna de las etapas valoradas (resultados no mostrados). Sin embargo, se debe señalar que a lo largo del tratamiento se observó una tendencia, estadísticamente significativa ($p < 0,05$), a disminuir las concentraciones de colesterol total y colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), que cambiaron de 226 ± 33 mg/dl y 148 ± 29 mg/dl a 208 ± 29 mg/dl y 132 ± 23 mg/dl, respectivamente.

Parámetros hematológicos y hemostáticos

Se observó mayor concentración de hematocrito y hemoglobina en los pacientes hipertensos en situación basal respecto al grupo control ($45,4 \pm 2,8\%$ y $15,0 \pm 1,1$ g/dl frente a $42,2 \pm 4,0\%$ y $13,6 \pm 1,7$ g/dl, respectivamente, $p < 0,001$). Ambos parámetros mostraron una cierta tendencia a normalizarse tras 2 meses de medicación con telmisartán, con valores finales de $44,2 \pm 3,4\%$ y $14,2 \pm 2,1$ g/dl, respectivamente. No se apreciaron diferencias significativas relacionadas con la fórmula leucocitaria ni con el cociente monocitos/leucocitos. En efecto, dicho cociente fue de $0,06 \pm 0,02$ en el grupo control y de $0,08 \pm 0,04$ y $0,07 \pm 0,03$ en los pacientes en situación basal y tras 2 meses de tratamiento, respectivamente. Tampoco se observaron diferencias en el recuento plaquetario de pacientes y controles (resultados no mostrados). La concentración plasmática de fibrinógeno no mostró cambios significativos atribuibles al tratamiento con telmisartán, ya que sus valores iniciales fueron de 323 ± 62 mg/dl y los finales de 322 ± 62 mg/dl.

Parámetros relacionados con el equilibrio oxidativo

Estrés oxidativo

En la **tabla 2** puede observarse que los pacientes hipertensos presentaron mayor potencial de membrana mitocondrial en toda la serie blanca estudiada, en comparación al grupo control. Los valores más significativos fueron los del potencial de membrana de linfocitos y granulocitos ($16,9 \pm 3,4$ UAF y $81,8 \pm 17,3$ UAF frente a $12,2 \pm 3,4$ UAF y $64,2 \pm 23,2$ UAF, respectivamente, lo que significa un aumento del 28 y el 22% respecto a los controles). En la **tabla 2** se aprecia que este aumento de estrés oxidativo de los pacientes hipertensos en situación basal tiende a normalizarse con el tratamiento aplicado. En efecto, a los 2 meses de medicación con telmisartán, los valores del potencial de membrana de linfocitos y granulocitos descienden hasta unas cifras finales de $10,4 \pm 3,9$ UAF y $52,2 \pm 31,9$ UAF, respectivamente, lo que representa una disminución del 38 y el 36% en relación con los valores basales.

Actividad enzimática antioxidante

En la **tabla 2** se aprecia que los valores de las actividades enzimáticas antioxidantes SOD y CAT resultan ser superiores en los pacientes hipertensos sin tratamiento que

Tabla 2 Valor medio, desviación estándar y significación estadística de los resultados correspondientes al estado oxidativo en pacientes y en el grupo control

	SOD U/mg	CAT U/mg	l $\psi\Delta$ UAF	M $\psi\Delta$ UAF	g $\psi\Delta$ UAF
Grupo control N = 30	0,13 \pm 0,04	5,39 \pm 0,98	12,2 \pm 3,4	31,4 \pm 12,5	64,2 \pm 23,2
HT basal N = 30	0,17 \pm 0,04 ^a	7,53 \pm 1,32 ^a	16,9 \pm 3,4 ^a	37,1 \pm 6,9 ^b	81,8 \pm 17,3 ^c
HTA 2 m Tel N = 30	0,15 \pm 0,06 ^d	6,03 \pm 1,42 ^e	10,4 \pm 3,9 ^f	38,1 \pm 20,6NS	52,2 \pm 31,9 ^f

g: granulocitos; HT: pacientes hipertensos; l: linfocitos; m: meses; M: monocitos; NS: no significativo; Tel: telmisartán; UAF: unidades arbitrarias de fluorescencia; $\psi\Delta$: potencial de membrana mitocondrial.

^ap < 0,001 frente a grupo control.

^bp < 0,05 frente a grupo control.

^cp < 0,01 frente a grupo control.

^dp < 0,05 frente a basal.

^ep < 0,01 frente a basal.

^fp < 0,001 frente a basal.

en el grupo control (0,17 \pm 0,04 U/mg y 7,53 \pm 1,32 U/mg frente a 0,13 \pm 0,04 U/mg y 5,39 \pm 0,98 U/mg; p < 0,001). El tratamiento con telmisartán se asocia a una disminución estadísticamente significativa de dichas actividades, con unos valores finales de 0,15 \pm 0,06 U/mg y 6,03 \pm 1,42 U/mg, respectivamente (p < 0,05 y p < 0,01), lo que significa una disminución del 12 y el 20% frente a las cifras iniciales.

Discusión

El efecto beneficioso del telmisartán sobre las cifras tensionales y la falta de efectos secundarios relevantes coincide, en general, con lo publicado por diversos autores y confirma a este fármaco como uno de los de elección en el tratamiento de la HTA.

Está descrito que la hipercolesterolemia aumenta la densidad del receptor AT1 de la angiotensina II, y contribuye al desarrollo de la hipertensión¹⁷, por lo que la disminución de la concentración del colesterol total y del cLDL, observada en el presente estudio, constituye un efecto beneficioso adicional, ya que debe disminuir la densidad de AT1 en la superficie celular. La mayor concentración de hematocrito de los pacientes en situación basal, supone un factor de riesgo de eventos tromboembólicos, al aumentar la viscosidad sanguínea. El tratamiento con telmisartán se acompaña de una tendencia a disminuir el hematocrito, lo que puede significar un efecto beneficioso antitrombótico no descrito en la bibliografía consultada.

Está bien establecido que la angiotensina II desempeña un papel decisivo en la inducción de estrés oxidativo celular, por lo que parece razonable que en la HTA, frecuentemente asociada con aumento de angiotensina II¹⁸, se produzca estrés oxidativo, tal como muestran nuestros resultados. La mitocondria es una importante productora de estrés oxidativo cuando ocurren cambios en la cadena respiratoria de la célula y este fenómeno puede detectarse valorando su potencial de membrana mitocondrial¹⁹. La mitocondria actúa como un sensor biológico de estrés oxidativo y permite a la célula establecer cambios adaptativos al daño

oxidativo, aumentando su potencial de membrana en situaciones de estrés. Los resultados del presente estudio, donde se ha detectado aumento de potencial de membrana mitocondrial en los pacientes en situación basal, coinciden, en líneas generales, con los publicados previamente por nuestro grupo¹. Actualmente, existen evidencias de que el estrés oxidativo está en el origen de diversas formas de enfermedad cardiovascular, por lo que su disminución supone un arma importante para evitar este tipo de patología. El aumento observado de actividad SOD y CAT en leucocitos circulantes de los pacientes hipertensos sin tratamiento, puede significar que se está produciendo un aumento de dicho estrés.

El tratamiento con bloqueadores del receptor AT1 de la angiotensina II debe producir, a través de su principal mecanismo de acción, una disminución de estrés oxidativo²⁰, ya que el receptor AT1 está directamente implicado en la generación del mismo²¹. Nuestros resultados confirman que, efectivamente, el tratamiento con telmisartán disminuye significativamente el potencial de membrana mitocondrial, debido muy probablemente al bloqueo de los receptores AT1.

Está descrito que el telmisartán disminuye la producción de H₂O₂ en leucocitos²², lo que resulta coherente con la disminución del potencial de membrana mitocondrial observado por nosotros. Ambas observaciones sugieren que el telmisartán presenta efecto antioxidante. El mecanismo a través del cual se ejerce esta acción puede ser discutible, aunque se ha sugerido que los receptores AT1 disminuyen la concentración de AMP cíclico (AMPc), que a su vez aumenta el estrés oxidativo y altera la función vascular²³. Por tanto, el bloqueo de estos receptores aumentaría la concentración de AMPc, disminuyendo el estrés. Adicionalmente, cuando los receptores AT1 son bloqueados por el telmisartán, se estimula la interacción de la angiotensina II con los receptores AT2, lo que potenciaría el efecto antioxidante del fármaco²⁴. En cualquier caso, la acción del telmisartán no parece relacionarse con una estimulación del sistema enzimático de protección antioxidante.

A la vista de los resultados obtenidos en el presente estudio, en el que se han valorado los dos brazos de la balanza

del sistema oxidativo en leucocitos, el mayor estrés oxidativo detectado en los pacientes hipertensos no parece ser atribuible a un defecto del sistema enzimático de defensa antioxidante celular, aunque otros grupos de trabajo han comunicado que el mayor estrés oxidativo se acompaña de una disminución de la actividad enzimática antioxidante en los pacientes hipertensos²². En nuestra experiencia, antes de iniciado el tratamiento con telmisartán, los pacientes presentan un significativo aumento del sistema antioxidante, a pesar de lo cual muestran, paradójicamente, mayor estrés oxidativo que el grupo control. Así pues, si el aumento de estrés no parece relacionarse con un déficit del sistema enzimático protector por lo que tendría que buscarse otra causa que lo justifique.

En nuestra experiencia, el telmisartán no aumenta el nivel de enzimas antioxidantes, por lo que su acción disminuidora del estrés oxidativo celular en leucocitos podría atribuirse, al menos parcialmente, a su estructura altamente lipofílica y antioxidante. Otros autores, por el contrario, describen que el tratamiento de la hipertensión con ARA-II aumenta la actividad de las enzimas antioxidantes²⁵, lo que no parece lógico dado que, si el tratamiento disminuye el estrés oxidativo de estos pacientes, resultaría innecesario aumentar la actividad protectora antioxidante. Otros grupos de trabajo han comunicado que, en animales de experimentación, el tratamiento con telmisartán no cambia el nivel de enzimas antioxidantes²⁶. En un trabajo anterior de nuestro grupo², describimos que otro ARA-II, el eprosartán, también disminuía la actividad antioxidante SOD y CAT en paralelo a la disminución de las cifras tensionales, lo que parece reforzar los resultados observados en el presente estudio, en el sentido de que la normalización del estrés oxidativo se acompaña de una disminución del sistema celular antioxidante. Está descrito que el estrés oxidativo induce adaptaciones en la expresión de enzimas antioxidantes protectoras en linfocitos²⁷, lo que resulta coherente con nuestros resultados.

A la luz de nuestra experiencia, podemos afirmar que los mecanismos involucrados en el balance oxidativo pueden ser estudiados en unas células tan accesibles como son los leucocitos de sangre periférica que, además, resultan adecuados como células diana para estudiar el efecto del telmisartán sobre dicho balance. Los efectos observados en el presente estudio pueden explicar, al menos en parte, la acción beneficiosa del telmisartán sobre la disfunción endotelial en los pacientes hipertensos y no han sido comunicados previamente en la literatura consultada.

Conflicto de intereses

Los autores declaran la no existencia de conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Labiós M, Martínez M, Gabriel F, Guiral V, Ruiz-Aja S, Beltrán B, et al. Effects of eprosartan on mitochondrial membrane potential and H₂O₂ levels in leukocytes in hypertension. *J Hum Hypertens*. 2008;22:493–500.
2. Labiós M, Martínez M, Gabriel F, Guiral V, Dasi F, Beltrán B, et al. Superoxide dismutase and catalase anti-oxidant activity in leukocyte lysates from hypertensive patients: effects of eprosartan treatment. *JRAAS*. 2009;10:24–30.
3. Alexander RW. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension*. 1995;25:155–61.
4. Romero-Alvira D, Roche E. High blood pressure, oxygen radicals and antioxidants: etiological relationships. *Med Hypotheses*. 1996;46:414–20.
5. Kristal B, Shurtz-Swirski R, Chezar J, et al. Participation of peripheral polymorphonuclear leukocytes in the oxidative stress and inflammation in patients with essential hypertension. *Am J Hypertens*. 1998;11:921–8.
6. Yee J, Christou NV. Neutrophil priming by lipopolysaccharide involves heterogeneity in calcium-mediated signal transduction. Studies using fluo-3 and flow cytometry. *J Immunol*. 1993;150:1988–97.
7. Labiós M, Martínez M, Gabriel F, Guiral V, Aznar J. Cytoplasmic free calcium mobilization in platelets, expression of P-selectin, phosphatidylserine and microparticle formation, measured by whole blood flow cytometry, in hypertensive patients. Effect of doxazosin GITS. *Thromb Res*. 2006;117:403–9.
8. Labiós M, Martínez M, Gabriel F, Gómez-Biedma S, Guiral V, Vivó M, et al. Flow cytometric analysis of platelet activation in hypertensive patients. Effect of doxazosin. *Thromb Res*. 2003;110:203–8.
9. Cooke JP, Dzau VJ. Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease. *Annu Rev Med*. 1997;48:489–509.
10. Schiefer B, Drexler H. Role of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibitors, angiotensin-converting enzyme inhibitors, cyclooxygenase-2 inhibitors, and aspirin in anti-inflammatory and immunomodulatory treatment of cardiovascular diseases. *Am J Cardiol*. 2003;91:12H–8.
11. Céballos-Picot I, Witko-Sarsat V, Merad-Boudia M, et al. Glutathione antioxidant system as a marker of uremia progression and oxidative stress in chronic renal failure. *Free Radical Biol Med*. 1996;21:845–9.
12. Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose and C-reacting protein. *Hypertension*. 2002;39:777–80.
13. Scaduto RS, Grotyohann LW. Measurement of mitochondrial membrane potential using fluorescent rhodamine derivatives. *Biophys J*. 1999;76:469–77.
14. Nebot C, Moulet H, Huet P, Xu JZ, Yadan JC, Chaudiere J. Spectrophotometric assay of superoxide dismutase activity based on the activated autooxidation of a tetracyclic catechol. *Anal Biochem*. 1993;214:442–51.
15. Kidson CH. Variations in catalase activity in human leukocytes. *Blood*. 1962;19:82–8.
16. Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal Biochem*. 1976;72:248–54.
17. Borghi C, Veronesi M, Cosentino E, et al. Interaction between serum cholesterol levels and the renin-angiotensin system on the new onset of arterial hypertension in subjects with high-normal blood. *J Hypertens*. 2007;25:2051–7.
18. Romero JC, Reckelhoff JF. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. *Hypertension*. 1999;34:943–9.
19. Kakkar P, Singh BK. Mitochondria: a hub of redox activities and cellular distress control. *Mol Cell Biochem*. 2007;305:235–53.
20. Cianchetti S, Del Fiorentino A, Colognato R, Di Stefano R, Franzoni F, Pedrinelli R. Anti-inflammatory and anti-oxidant properties of telmisartan in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Atherosclerosis*. 2008;198:22–8.

21. Nickenig G, Harrison DG. The AT1-type angiotensin receptor in oxidative stress and atherogenesis, part II: AT1 receptor regulation. *Circulation*. 2002;105:530–6.
22. Chaves FJ, Mansego ML, Blesa S, et al. Inadequate cytoplasmic antioxidant enzymes response contributes to the oxidative stress in human hypertension. *Am J Hypertens*. 2007;20:62–9.
23. Saha S, Li Y, Anand-Srivastava MB. Reduced levels of cyclic AMP contribute to the enhanced oxidative stress in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats. *Can J Physiol Pharmacol*. 2008;86:190–8.
24. Thai H, Wollmuth J, Goldman S, Gaballa M. Angiotensin subtype 1 receptor blockade improve vasorelaxation in heart failure by up-regulation of endothelial nitric-oxide synthase via activation of the AT2 receptor. *J Pharmacol Exp Ther*. 2003;307:1171–8.
25. Sáez GT, Tormos C, Giner V, et al. Factors related to the impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. *Am J Hypertens*. 2004;17:809–16.
26. Sugiyama H, Kobayashi M, Da-Hong W, et al. Telmisartan inhibits both oxidative stress and renal fibrosis after unilateral ureteral obstruction in acatalasemic mice. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20:2670–80.
27. Khassaf M, McArdle A, Esanu C, et al. Effect of vitamin C supplements on antioxidant defence and stress proteins in human lymphocytes and skeletal muscle. *J Physiol*. 2003;549:645–52.