

Detección de estrés nitrosante en niños con hipertensión pulmonar secundaria a comunicación interventricular

Fausto César García-Hernández,¹ José Gutiérrez-Salinas,² Liliana García-Ortiz,³ Sotero Ramírez-García,⁴ Norma Rebeca Núñez-Ramos,⁴ Sergio Hernández-Rodríguez,² Hazel Carranza-Castro,¹ Abel Archundia-García²

RESUMEN

Antecedentes: la hipertensión pulmonar en niños, secundaria a comunicación interventricular, produce alteraciones generales en el organismo caracterizadas por reactividad importante en el sistema vascular cardio-pulmonar. En modelos experimentales se ha comprobado que existe estrés nitrosante que acompaña a la hipertensión pulmonar.

Objetivo: detectar la concentración de malondialdehído en pacientes pediátricos con hipertensión pulmonar.

Material y método: estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal y comparativo efectuado en niños de 0 a 5 años de edad con diagnóstico clínico de hipertensión pulmonar secundaria a comunicación interventricular. A todos los sujetos de estudio se les tomó una muestra de sangre para aislar el plasma y determinar, mediante métodos espectrofotométricos con equipos comerciales, la concentración de malondialdehído, nitratos totales (NOx) y el estatus antioxidante total (EAT). Como grupo control se tomaron muestras de sangre de niños sin afectación cardiovascular, pareados en edad al grupo en estudio.

Resultados: la concentración de malondialdehído en los niños con hipertensión pulmonar tuvo un incremento estadísticamente significativo de 2.55 veces respecto del grupo control ($p < 0.05$), al igual que el estatus antioxidante total que se incrementó 14%. La concentración de nitratos totales fue 1.42 veces menor en pacientes con hipertensión pulmonar en comparación con el grupo control.

Conclusiones: nuestros resultados muestran que los niños con hipertensión pulmonar tienen alteraciones en el equilibrio nitrosativo, indicativos de estrés nitrosativo secundario a su enfermedad de base que puede alterar el resto del organismo, sobre todo el sistema circulatorio.

Palabras clave: malondialdehído, hipertensión pulmonar, nitratos totales, cardiopatía

ABSTRACT

Background: Pulmonary hypertension (PH) in children secondary to ventricular septal defect is a condition that causes changes in the organism, characterized by hyperactivity in the cardiopulmonary system. In experimental models it was found that there is nitrosative stress accompanying the PH. The aim of this study is to detect this type of metabolic conditions in children with this disease.

Material and Methods: A sample of blood from children (0-5 years old) with the diagnosis of PH secondary to septal defect was used. With use of spectrophotometric methods, we determine the concentration of malondialdehyde (MDA), total nitrates (NOx) and total antioxidant status (TAS). As a control group, children without cardiovascular disease were sampled age-matched to the group under study.

Results: The concentration of MDA in children with PH presents a statistically significant increase, 2.55 times compared to the control group ($p < 0.05$), as did the TAS with increase of 14%. Moreover, the NOx concentration is 1.42 times lower in patients with PH compared to control group.

Conclusions: We conclude that children with HP present alterations in nitrosative balance, indicative of nitrosative stress secondary to the underlying pathology that can alter the rest of the organism, especially the circulatory system.

Key words: malondialdehyde, pulmonary hypertension, total nitrates, cardiac disease.

¹ Cirugía cardio-torácica.

² Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental.

³ División de Medicina Genómica.

⁴ Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE, México DF.

Uromédica OSF, México DF.

Correspondencia: Dr. José Gutiérrez Salinas, Laboratorio de Bioquímica y Medicina Experimental, División de Investigación Biomédica, Centro Médico Nacional 20 de Noviembre, ISSSTE. San Lorenzo 502, 2º piso, México 03100 DF. Correo electrónico:

quauhtlicutli@yahoo.com

Recibido: 15 de noviembre 2012. Aceptado: marzo 2013.

Este artículo debe citarse como: García-Hernández FC, Gutiérrez-Salinas J, García-Ortiz L, Ramírez-García S, Núñez-Ramos NR, Hernández-Rodríguez S, Carranza-Castro H, Archundia-García A. Detección de estrés nitrosante en niños con hipertensión pulmonar secundaria a comunicación interventricular. Med Int Mex 2013;29:242-249.

www.nietoeditores.com.mx

La hipertensión pulmonar es una enfermedad que se caracteriza por la elevación de la presión arterial pulmonar media (PAPm) por encima de 25 mmHg durante el reposo o elevación por encima de 30 mmHg durante el ejercicio; el valor normal es de 15 mmHg en reposo.^{1,2} Existen varios tipos generales de hipertensión pulmonar: aislada o asociada con enfermedad subyacente.

La causa de la hipertensión pulmonar se basa en la clasificación más reciente de la Organización Mundial de la Salud que incluye cinco categorías: 1) hipertensión pulmonar arterial (asociada), 2) hipertensión pulmonar asociada con enfermedad cardíaca izquierda, 3) hipertensión pulmonar asociada con enfermedad pulmonar o hipoxemia, 4) hipertensión pulmonar asociada con enfermedad tromboembólica crónica y 5) hipertensión pulmonar relacionada con otras alteraciones en donde se incluye a la hipertensión pulmonar asociada idiopática, familiar, asociada con enfermedad de la colágena, cortos sistémico-pulmonares congénitos, hipertensión portal, VIH, drogas-toxinas y otras condiciones, como: telangiectasia hemorrágica hereditaria (síndrome Osler-Weber-Rendu) y hemoglobinopatías.¹⁻⁶

La característica fisiopatológica de la hipertensión pulmonar es la aparición e incremento de la resistencia vascular pulmonar que, a su vez, conduce a mayor post-carga del ventrículo derecho, con evolución a insuficiencia cardíaca derecha y muerte sin tratamiento.¹⁻⁶

Los síntomas más frecuentes son: disnea de esfuerzo, angina, síncope o presíncope, astenia y fenómeno de Raynaud. Los signos más frecuentes son: segundo ruido reforzado en foco pulmonar, galope ventricular derecho por cuarto tono, frémito palpable en borde esternal izquierdo (hipertrofia ventricular derecha), pulso venoso con onda "v", presión venosa yugular elevada, soplo de Graham-Steell, signos de insuficiencia cardíaca derecha y galope ventricular derecho por tercer tono.^{4,6}

Las cardiopatías congénitas en niños son las principales causas de hipertensión pulmonar y comunicación interventricular, la más frecuentemente reportada en todo el mundo⁷ por lo que puede representar un alto gasto de recursos. Las personas afectadas con este tipo de enfermedades requieren cuidados a lo largo de su vida y aún cuando su afección cardíaca puede tratarse quirúrgicamente, su condición general puede verse alterada en forma permanente.^{7,8}

En relación con lo anterior, los estudios realizados en modelos experimentales con animales han demostrado que

la hipertensión pulmonar puede provocar un efecto a largo plazo que altera la circulación general y no se revierte a pesar de eliminar la causa que la originó.^{9,10} La producción de radicales libres, principalmente el óxido nítrico y los derivados del oxígeno, puede tener un papel fundamental en el daño general pero, principalmente vascular en la arteria porque las células epiteliales de los vasos sanguíneos producen, de manera regular, óxido nítrico, que es un regulador metabólico y fisiológico con un papel fundamental en el mantenimiento del tono arterial general y local.¹¹⁻¹³

El endotelio de las arterias constantemente produce óxido nítrico, elemento que tiene un papel fundamental en la regulación del tono vascular por lo que cualquier alteración en su producción puede tener consecuencias en la circulación general y local porque la contracción o relajación del músculo liso del endotelio es altamente sensible a las concentraciones de óxido nítrico.¹¹⁻¹³ Estudios efectuados en modelos *in vitro* señalan que la producción de óxido nítrico induce en forma directa o indirecta la formación de radicales libres derivados del oxígeno, los que al interactuar con las macromoléculas de las células alteran su estructura y función.¹¹⁻¹⁶ Además, si en determinado momento existe un desequilibrio entre la cantidad de radicales libres derivados del oxígeno o del nitrógeno (como es el caso del óxido nítrico) y la cantidad de antioxidantes en el organismo, se produce estrés oxidativo o nitrosativo, o ambos, que puede alterar provisional o permanentemente la estructura y la función de la célula y el organismo en general.¹¹⁻¹⁶

En el laboratorio puede determinarse el estrés oxidativo y nitrosativo mediante la determinación de metabolitos que se relacionan directamente con el tipo de radicales que afectan a las macromoléculas. También puede determinarse el estatus antioxidante total, que es una medida de la concentración de oxidantes-antioxidantes que existen en un momento dado en la célula o el organismo.¹⁴⁻¹⁶ Así, la determinación de la concentración de nitratos totales es una medida de la concentración de óxido nítrico y la determinación de malondialdehído es un parámetro aceptado de daño por radicales libres derivados del oxígeno y, por tanto, del estrés oxidativo. La determinación del estatus antioxidante total es un reflejo general del equilibrio existente entre los sistemas oxidantes-antioxidantes del organismo.¹¹⁻¹⁸

Experimentos realizados con animales de laboratorio han demostrado que existe estrés metabólico caracterizado

por la alteración en el equilibrio de los radicales libres que puede ser un componente importante en el proceso fisiopatológico de daño general al organismo. Este tipo de estudios también indica que el grado de daño por estrés metabólico depende del tiempo y grado de hipertensión. Por esto se propuso que la determinación de los metabolitos derivados del daño provocado por las especies reactivas derivadas del oxígeno o el nitrógeno pueden ser indicadores del daño y servir como factores pronósticos en este tipo de afecciones. Por todo lo anterior, el objetivo de este trabajo es determinar la concentración de nitratos totales, malondialdehído y el estatus antioxidante total en niños con hipertensión arterial pulmonar secundaria a comunicación interventricular, en un intento por entender los procesos fisiopatológicos de daño provocado por las alteraciones entre los elementos antioxidantes y los oxidantes del organismo.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio descriptivo, prospectivo, longitudinal y comparativo efectuado en niños de uno y otro sexo de meses de nacimiento a cinco años de edad atendidos en el servicio de Cardiología de nuestra institución, referidos debido al diagnóstico de comunicación interventricular con hipertensión pulmonar arterial. A cada paciente, bajo consentimiento informado y permiso de sus padres, se le realizó historia clínica, estudios rutinarios de laboratorio y gabinete y ecoardiografía Doppler para evaluar su condición cardio-pulmonar. Como grupo control se tomaron muestras de sangre de niños aparentemente sanos, o por lo menos sin algún problema cardio-pulmonar, pareados en edad y sexo con el grupo con hipertensión pulmonar.

Las muestras se tomaron por venopunción en ayuno de 12 horas; se recolectaron en tubos con anticoagulante (heparina ó EDTA) y centrifugadas a 1500 rpm durante 15 minutos para obtener el plasma que se colocó en viales y congeló a -70 °C hasta su posterior uso.¹⁹

Determinación de la concentración de nitratos totales

Como reflejo de la concentración de óxido nítrico en plasma, se determinó la concentración de nitratos totales (NOx) en muestras de plasma usando un equipo de reactivos comerciales (Cayman Chemical, Ann Arbor, USA) basado en el procedimiento propuesto por Cortas y Wakid²⁰ usando cadmio activado para derivar los nitritos

del plasma. Brevemente se prosiguió como sigue: se filtró un volumen de plasma a través de un filtro de 0.22 µm (Millex-GV, PVDF-durapore, Millipore Co, Bedford MA, USA). El filtrado se desproteinizó agregando cuatro volúmenes de solución de sulfato de cinc (75 mM) e hidróxido de sodio (55 mM) agitando brevemente y centrifugando a 5000 rpm durante 10 minutos para recuperar el sobrenadante. Un volumen de éste se usó para su derivación con gránulos activados de cadmio, siguiendo el procedimiento de Cortas y Wakid.²⁰ Enseguida de obtener el derivado de nitratos se tomó un volumen y se mezcló con 2.5 volúmenes de agua bidestilada, un volumen de sulfanilamida (3% p/v en HCl 0.4N) y de N-naptiletilendiamina (0.1% p/v en agua bidestilada). La mezcla se agitó brevemente y se dejó incubar 30 minutos y luego se leyó a 540 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6300, Cielovista, Cal. USA). La concentración de nitratos totales se reportó en nmol/L de acuerdo con una curva patrón hecha con concentraciones variables de KNO₃.^{19,20}

Determinación de malondialdehído

La concentración de malondialdehído como un índice de lipoperoxidación en las muestras de plasmas de ambos grupos en estudio se midió con un equipo de reactivos comerciales (MyBiosource, Cal, USA) basado en el método descrito por Ohkawa.²¹ Se procedió de la siguiente manera: en un tubo de ensayo se colocaron 200 µL de suero junto con 1.5 mL de ácido acético (20%) y 1.5 mL de ácido tiobarbitúrico (0.8% en agua). Se mezcló hasta conseguir la homogeneidad y se colocó en agua a ebullición durante 60 minutos; al término se agregó 1 mL de agua bidestilada y 5 mL de butanol-piridina (15:1 v/v) y se agitó vigorosamente. La muestra se centrifugó durante 10 minutos a 2500 rpm. El sobrenadante se recuperó y leyó a 545 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6300, Cielovista Cal. USA). La concentración de malondialdehído se calculó a partir del coeficiente de extinción (1.54 x 10⁵ M⁻¹ cm⁻¹) y la concentración se expresó en nmol/mg proteína total.

Determinación del estatus antioxidante total

El estatus antioxidante total se determinó en muestras de plasma (20 µL) con un equipo de reactivos de Calbiochem (Calbiochem; Cat. No. 615700) basado en la capacidad de la muestra de inhibir la oxidación del ABTS (2,2'-azido-di-(3-etilbenceno- sulfonato de tiazolidina); se leyó a 600 nm en un espectrofotómetro (Jenway 6300, Cielovista

Cal. USA) y el resultado se expresó en concentración mili molar.

Determinación de la concentración de proteína

En todos los casos la concentración de proteína se determinó con el método descrito por Lowry²² con albúmina de suero bovino como estándar.

Análisis estadístico

Los resultados se analizaron en una hoja de cálculo de Excel (Microsoft Corporation, USA) y el programa estadístico GraphPad Prism V-4.00 (GraphPad Software, San Diego, Cal., USA). Los resultados cualitativos se analizaron con tablas de contingencia y prueba de Yates. Los datos cuantitativos se analizaron con t de Student no pareada y asociación entre variables por medio del coeficiente de Spearman. Para todos los casos se tomó en cuenta una $p < 0.05$ como estadísticamente significativa.

RESULTADOS

El Cuadro 1 muestra las características generales de los niños con hipertensión pulmonar y del grupo control. Los niños con hipertensión pulmonar tienen alteraciones vasculares compatibles con hipertensión pulmonar, secundaria a comunicación interventricular, que es su enfermedad de base. Como se muestra en el Cuadro 1, los síntomas y signos de predominio cardio-pulmonar coexisten en diversas proporciones entre los niños con el padecimiento de base y que resultaron con hipertensión pulmonar.

La Figura 1 muestra las concentraciones de nitratos totales en ambos grupos de estudio. La determinación de nitratos totales es un indicador directo de la producción de óxido nítrico en el organismo; por esto, como se muestra en la Figura 1, los niños con hipertensión pulmonar tienen menor concentración plasmática de nitratos totales estadísticamente significativa de 31.57%, en comparación con el grupo control (376.5 ± 39.19 nmol/L vs 257.62 ± 22.48 nmol/L; $p < 0.05$, respectivamente). Esto se interpreta como menor producción de óxido nítrico en los niños con esta afección.

En la Figura 2 se muestra el promedio de las concentraciones de malondialdehído en el grupo control y en el de hipertensión pulmonar. La determinación de la concentración de este metabolito se considera un buen índice de daño a los lípidos poliinsaturados por acción directa de

Cuadro 1. Características generales de los niños del grupo control y los que padecían hipertensión pulmonar. Los datos se presentan como promedios $\pm$ DE (rango) para cada grupo, o como porcentajes, según corresponda

Variable	Control (n= 20)	H. P. (n= 23)
Género (F/M)	12/8	16/7
Edad (años)	3.24 ± 1.02 (0.4-5)	2.4 ± 1.51 (0.7-6)
Peso (kg)	16.32 ± 7.9 (4.5-28)	8.32 ± 4.21 (4.4-26)
Características clínicas		
Disnea (%)	---	80
Fatiga (%)	---	72
Cianosis con ejercicio (%)	---	30
Sincope (%)	---	7
Hepatomegalia (%)	---	11
Parámetros hemodinámicos		
PPM (mmHg)	$< 25^*$	59.6 ± 18.2
Índice cardiaco (L/min/m ²)	2.5 a 3.5*	3.1 ± 1.3
IRVP (Unidades Wood m ²)	1.1 a 1.6*	7.6 ± 4.3

* Valor normal tomado como referencia de la bibliografía.

PPM: presión pulmonar media; IRVP: índice de resistencia vascular pulmonar.

los radicales libres derivados del oxígeno. Este daño es mayor en los pacientes con hipertensión pulmonar porque tienen un incremento incluso de 2.39 veces con respecto al grupo control (0.59 ± 0.11 nmol/mg prot vs 1.41 ± 0.27 nmol/mg prot; $p < 0.05$, respectivamente), lo que indica un gran daño al organismo.

Además, la Figura 3 muestra la determinación del estatus antioxidante total realizada en las muestras del grupo control y de los pacientes con hipertensión pulmonar. En este caso se observa que existe un incremento en el estatus antioxidante total de 15.03% en el grupo con hipertensión pulmonar en relación con el grupo control (2.074 ± 0.062 mM vs 1.803 ± 0.051 ; $p < 0.05$, respectivamente).

Puesto que el estatus antioxidante total muestra la condición del equilibrio oxidativo dependiendo del equilibrio entre los oxidantes y antioxidantes que se producen en el organismo en un momento determinado, se ha recurrido a la asociación o relación de este estatus total con la concentración de metabolitos que potencialmente son oxidantes o dañinos para el organismo. Así, la Figura 4 muestra la correlación entre el estatus antioxidante total y las con-

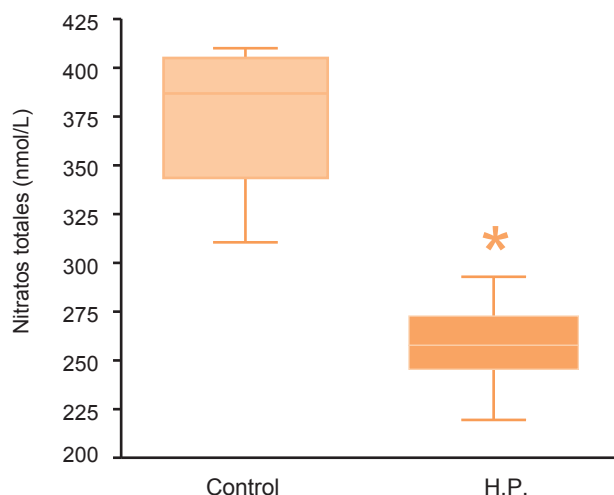


Figura 1. Concentración de nitratos totales (NOx) en el plasma de niños con hipertensión arterial pulmonar y los del grupo control. Cada grupo se representa por gráficas de cajas con límites superior e inferior en los extremos. Cada grupo representa el resultado de 20-23 datos individuales. * $p < 0.05$.

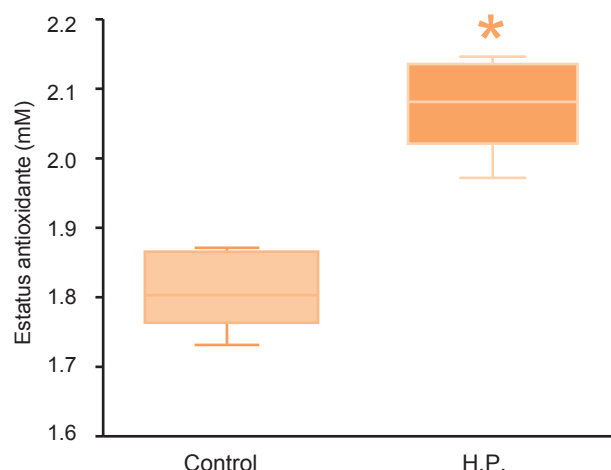


Figura 3. Estatus antioxidante total determinado en muestras de plasma de niños con hipertensión pulmonar y en el grupo control. Cada grupo se representa por gráficas de cajas con límites superior e inferior en los extremos. Cada grupo representa el resultado de 20-23 datos individuales (* $p < 0.05$).

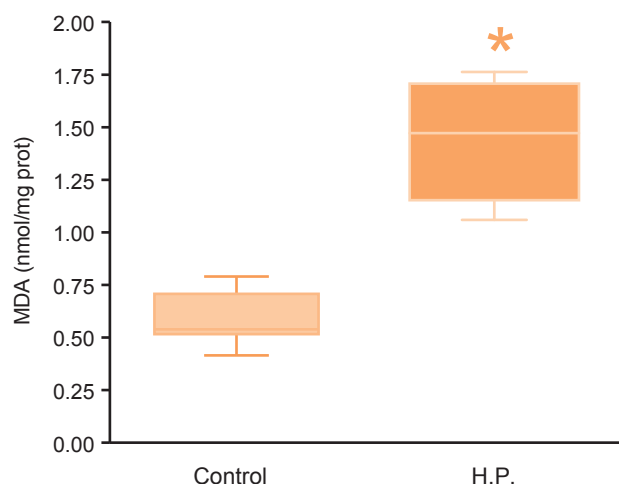


Figura 2. Concentración de malondialdehído determinada en muestras de plasma de niños con hipertensión pulmonar y en el grupo control. Cada grupo se representa por gráficas de cajas con límites superior e inferior en los extremos. Cada grupo representa el resultado de 20-23 datos individuales. * $p < 0.05$

centraciones de nitratos totales y malondialdehído en los niños del grupo control y en los que padecen hipertensión pulmonar. Los niños del grupo control muestran una asociación positiva entre el estatus antioxidante total y las concentraciones de malondialdehído y de nitratos totales

($r = 0.31$ y $r = 0.32$; para ambos $p < 0.05$, respectivamente) (Figura 4 A y B, respectivamente). Por el contrario, los niños con hipertensión pulmonar tienen una asociación negativa ($r = -0.59$; $p < 0.05$) entre el estatus antioxidante total y la concentración de nitratos totales y una correlación positiva ($r = 0.47$; $p < 0.05$) entre el estatus antioxidante total y la concentración de malondialdehído (Figura 4, C y D; respectivamente).

DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran que existe una alteración importante en el equilibrio oxidativo en los niños con hipertensión arterial pulmonar secundaria a comunicación interventricular. Esta alteración en el equilibrio se debe, principalmente, a un exceso en la concentración de malondialdehído y a la marcada disminución en la concentración de nitratos totales y a que, ambos, están en asociación directa con el estatus antioxidante total.

La determinación de la concentración de nitratos totales es una medida de la existencia de óxido nítrico, que es producido por las células endoteliales del sistema vascular arterial y que tiene un conocido efecto vasodilatador, además de otras funciones metabólicas por ser también reconocido como una molécula de señalización

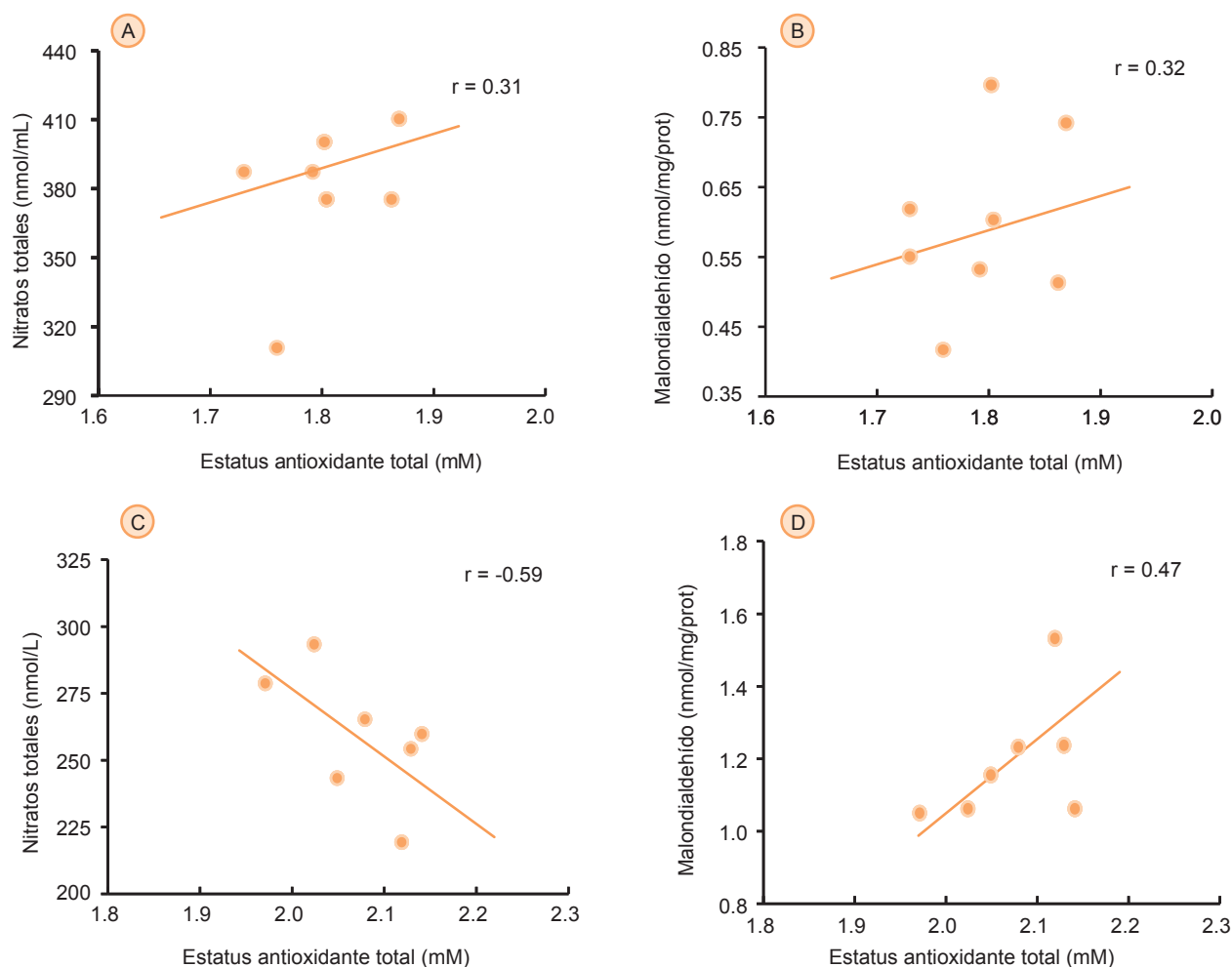


Figura 4. Graficas que representan la asociación entre el estatus antioxidante total y la concentración de nitratos totales y de malondialdehído en el grupo control (A y B) y los que padecieron hipertensión pulmonar (C y D).

intracelular.¹¹⁻¹⁵ Su concentración en el organismo debe ser regulada en forma muy precisa para evitar alteraciones metabólicas y fisiológicas generales que induzcan un cambio importante del tono vascular que origine un proceso de hipertensión o de hipotensión generalizada por falta o exceso (respectivamente) de óxido nítrico. En modelos experimentales se ha descrito que situaciones en las que se produce un exceso en la producción de óxido nítrico originan vasodilatación mientras que la disminución en la producción de este metabolito da lugar a vasoconstricción; ambas situaciones se asocian con procesos de hipoxia-reperfusión que, en general, afectan a los tejidos.^{11,12,14,23-26}

La hipoxia-reperfusión en los tejidos origina diversas clases de alteraciones metabólicas, principalmente las relacionadas con la producción de radicales libres derivados del oxígeno y del nitrógeno (principalmente óxido nítrico).^{11-14,23-26} De esta forma, en modelos experimentales se ha descrito que las afecciones cardiacas o pulmonares que originan hipoxia-reperfusión continua, alteran el equilibrio oxidativo y de las concentraciones de los principales metabolitos indicadores de daño oxidativo, como el malondialdehído y los nitratos totales.²³⁻²⁸ En este tipo de modelos se ha descrito que durante la fase de hipoxia tisular se incrementa de manera importante la producción de nitratos totales (y, por tanto, de nitrógeno) y en la fase

de reperfusión existe un incremento significativo de malondialdehído (es decir, de radicales libres derivados del oxígeno) lo que indica daño oxidativo al organismo.²³⁻²⁸

Contrario a lo descrito en modelos animales, nuestros resultados muestran que los niños con cardiopatía que origina hipertensión arterial pulmonar tienen importante disminución de la concentración de nitratos totales, que se interpreta como disminución en la concentración de óxido nítrico. Pensamos que este hecho puede originarlo la disminución importante en la expresión vascular de la enzima óxido nítrico sintetasa (principal enzima encargada de la síntesis del óxido nítrico) causada por la enfermedad cardio-pulmonar de base que padece este tipo de pacientes. Lo anterior está apoyado por la observación de que los procesos patológicos agudos o crónicos fatales pueden disminuir la expresión de esta enzima con el consiguiente decremento en la producción de óxido nítrico y, con ello, aumentar el tono vascular general o local.²⁸⁻³⁰

Está reportado que cuando el equilibrio nitrosativo (producción de óxido nítrico) se altera, se produce un exceso en la producción de radicales libres derivados del oxígeno, que puede incrementar el daño general al organismo.^{11,13,14,16,18,26,27}

Con base en lo anterior puede formularse la hipótesis de que el defecto en la comunicación interventricular origina, como proceso secundario, hipertensión arterial pulmonar permanente que no puede ser compensada por los sistemas antioxidantes del organismo puesto que existe una correlación inversa entre el estatus antioxidante total y las concentraciones de malondialdehído y nitratos totales; el primer metabolito es un indicador importante de daño general al organismo por la existencia de radicales libres derivados del oxígeno. Los nitratos totales se consideran un indicador de la producción de óxido nítrico y, de acuerdo con nuestros resultados, ese metabolito se encuentra muy disminuido en este tipo de pacientes. Puesto que la disminución en la producción de óxido nítrico incrementa la tensión arterial general, pensamos que en este tipo de pacientes, en donde existe un defecto cardíaco anatómico permanente que origina un daño oxidativo (evidenciado por el incremento en la concentración de malondialdehído), y un daño nitrosativo (evidenciado por la disminución en la concentración de nitratos totales), lo que genera un desequilibrio general en el estatus antioxidante total del organismo. Por lo anterior se señala que los niños con este tipo de afección tienen como acompañante importante

estrés nitrosativo-oxidativo que puede condicionar una parte importante del daño metabólico a los tejidos.

CONCLUSIONES

En los niños con hipertensión pulmonar secundaria a comunicación interventricular se observa una alteración importante en el equilibrio oxidativo originado por incremento en la concentración plasmática de malondialdehído, junto con disminución en la concentración del óxido nítrico, que puede ser un reflejo de la “falla” en la producción de este metabolito, lo que puede ser parte del problema fisiopatológico de la hipertensión arterial pulmonar.

Esta alteración en las concentraciones de ambos metabolitos refleja la existencia de estrés metabólico como alteraciones en el estatus antioxidante total. Por esto deben efectuarse más estudios para elucidar el papel de esta condición en la salud de este tipo de pacientes y evitar mayor daño a su organismo que deteriore su calidad de vida.

REFERENCIAS

1. Rubin L. Diagnosis and Management of Pulmonary Arterial Hypertension: ACCP Evidence-based Clinical Practice Guidelines. *Chest* 2004;126:7-10.
2. Hipertensión Arterial Pulmonar. Meditex 2002. Documento de consenso de la Sociedad Española de Cardiología y la Sociedad Española de Neumología y Cirugía Torácica, octubre 2001.
3. Simonneau G. Continuous Subcutaneous Infusion of treprostinil a Prostacyclin analogue, in patients with pulmonary arterial hypertension. *Amer J Resp Crit Care Med* 2002;165:800-804.
4. Santos S, Peinado V. Conceptos actuales sobre la patogenia de la Hipertensión Pulmonar. *Arch Bronconeumol* 2002;38(supl 1):10-15.
5. Lobo J. Pauta de tratamiento de la hipertensión pulmonar. *Arch Bronconeumol* 2002;38(Supl 1):24-28.
6. Severson C, McGoon M. Continuous Intravenous Epoprostenol for Pulmonary Arterial Hypertension: Highlighting Practical Issues, Special considerations. *Advances in Pulmonary Hypertension Winter* 2002;1:4-8.
7. Park MH. Advances in diagnosis and treatment in patients with pulmonary arterial hypertension. *Catheter Cardiovasc Interv* 2008;71:205-213.
8. Chin KM, Rubin LJ. Pulmonary artery hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1527-1538.
9. DeMarco VG, Habibi J, Whaley-Connell AT, Schneider RI. Oxidative stress contributes to pulmonary hypertension in the transgenic (mRen2)27 rat. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2008;294:H2659-2668.
10. Ferrari R, Cargnoni A, Curello S, Boffa GM, Ceconi C. Effects of iloprost (ZK 36374) on glutathione status during ischaemia and reperfusion of rabbit isolated hearts. *Br J Pharmacol* 1989;98:678-684.

11. Ignarro LJ. Nitric oxide as a unique signaling molecule in the vascular system: a historical overview. *J Physiol Pharmacol* 2002;53:503-514.
12. Stankevicius E, Kévelaitis E, Vainorius E, Simonsen U. Role of nitric oxide and other endothelium-derived factors. *Medicina* 2003;39:333-341.
13. May JM, Zhi-Chao Q, Xia L, Cobb CE. Nitric uptake and metabolism and oxidant stress in human erythrocytes. *Am J Physiol Cell Physiol* 2000;279:C1946-C1954.
14. Dalle-Donne I, Rossi R, Colombo R, Giustarini D, Milzani A. Biomarkers of oxidative damage in human disease. *Clin Chem* 2006;52:601-623.
15. Noble DR, Williams DLH. Nitrosation products from S-nitrosothiols via preliminary nitric oxide formation. *J Chem Soc Perkin Trans* 2002;2:1834-1838.
16. Halliwell B. Free radicals, antioxidants and human disease: curiosity, cause, or consequence? *Lancet* 1999;344:721-724.
17. Nielsen F, Mikkelsen BB, Nielsen JB, Andersen HR, Grandjean P. Plasma malondialdehyde as biomarker for oxidative stress: reference interval and effects of life-style factors. *Clin Chem* 1997;43:1209-1214.
18. Fridovich I. Oxygen toxicity: a radical explanation. *J Exp Biol* 1998;201:1203-1209.
19. Gutiérrez-Salinas J, Cruz-Tovar L. Determinación de enzimas antioxidantes y malondialdehído en el suero de niños con IgM positiva para citomegalovirus *Acta Pediatr Mex* 2009;30(2):77-83.
20. Cortas N.K, Wakid N.W. Determination of inorganic nitrate in serum and urine by kinetic cadmium-reduction method. *Clin Chem* 1990;38:1440-1443.
21. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal Biochem* 1979;95:351-358.
22. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AI, Randal RJ. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;95:351-358.
23. Sethi S, Pratap MS, Dikshit M. Nitric oxide-mediated augmentation of polymorphonuclear free radical generation after hypoxia-reoxygenation. *Blood* 1999;93:333-340.
24. Yoshida K, Kasama K. Biotransformation of nitric oxide. *Environmental Health Pers* 1987;73:201-206.
25. Toda N, Okamura T. The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels. *Pharmacol Rev* 2003;55:271-324.
26. Rubbo H, Tarpey M, Freeman BA. Nitric oxide and reactive oxygen species in vascular injury. *Biochem Soc Symp* 2000;61:33-35.
27. Rathaus M, Bernheim J. Oxygen species in the microvascular environment: regulation of vascular tone and the development of hypertension. *Nephrol Dial Transplant* 2002;17:216-221.
28. Aiko O, Vuopala K, Pokela ML, Hallman M. Diminished inducible nitric oxidase synthase expression in fulminant early-onset neonatal pneumonia. *Pediatrics* 2000;105:1013-1019.
29. Anggard E. Nitric oxide: mediator, murderer and medicine. *Lancet* 1994;343:1199-1206.
30. Petros A, Bennet D, Vallance P. Effect of nitric oxide synthase inhibitors on hypotension in patients with septic shock. *Lancet* 1991;338:1557-1558.