



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Maestría y Doctorado en Ciencias Bioquímicas

Determinación de ácidos grasos libres y peroxidación lipídica en adultos mayores hipertensos bajo tratamiento farmacológico

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
Maestra en Ciencias

PRESENTA:

QFB. Norma Jassel Ramírez Rodríguez

TUTOR PRINCIPAL

Dra. Mirelle Vanessa González Covarrubias
[Instituto Nacional de Medicina Genómica \(INMEGEN\)](#)

COMITÉ TUTOR

Dr. Samuel Canizales Quinteros
[Instituto Nacional de Medicina Genómica \(INMEGEN\)](#)

Dr. Marco Antonio Velasco Velázquez
[Facultad de Medicina \(UNAM\)](#)

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., mayo 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Este trabajo de investigación se realizó gracias al Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN SXXI-IMSS), y al equipo que hace posible el seguimiento de la cohorte COSFAMM en la Unidad de Investigación Epidemiológica y en Servicios de Salud, Área Envejecimiento: Dr. Sergio Sánchez-García; Dra. Dolores Mino-León; QFB. Marco N. Gutierrez.

Asimismo, a la Bióloga Cintia K. Guzmán Cruz del Instituto Nacional de Medicina Genómica (INMEGEN) quien hace posible el procesamiento de muestras clínicas.

Al INMEGEN, a CMN SXXI-IMSS por los apoyos y financiamientos a los proyectos CEI2017/04 y 23/2016/I, IMSS R2018-785-004 y FOSSIS No. 272795 respectivamente.

Agradecimientos

Estoy orgullosa de presentar este trabajo de investigación producto de mucho aprendizaje científico, pero también personal. Al inicio no poseía las habilidades ni la confianza necesarias, le debo en gran parte a la Dra. Vanessa González, mi tutora, este gran logro académico. Mi tutora siempre ha estado dispuesta a apoyar y a brindarme todas las herramientas para que se obtengan los mejores resultados, me enseñó a no darme por vencida, demostró que a través del esfuerzo y la constancia se cumplen los objetivos, no olvidaré sus enseñanzas.

Me siento afortunada de haber tenido a dos grandes investigadores como guías durante mi estancia en la maestría. El Dr. Canizales con una amplia trayectoria y conocimiento en el estudio de la población mexicana y el Dr. Marco Velasco dedicado a la investigación sobre cáncer y farmacología con un gran número de publicaciones. Ambos hicieron un aporte sustancial en el abordaje de mi proyecto, agradezco su tiempo, paciencia y retroalimentación.

También quiero agradecer a mis talentosos compañeros de laboratorio: Taxis, Ari, Cintia, Helena, Martín, David, Karla y Alma porque no dudaron en brindar su ayuda y apoyo cuando me fueron necesarios.

Este trabajo no podría haberse llevado a cabo sin el apoyo de Kevin, en los momentos más desesperanzadores nunca dudó de mí y me ayudó con todo lo que tuvo a su alcance.

Por último, quiero mencionar a mi familia ya que gracias a su soporte y confianza he llegado hasta este punto de mi trayectoria académica.

TABLA DE CONTENIDO

	Página
Índice de tablas	7
Índice de figuras	9
Resumen (Abstract)	11
Introducción	15
Justificación	21
Hipótesis	23
Objetivo general	23
Objetivos particulares	23
Metodología	
1. Población de estudio	24
2. Determinación de ácidos grasos libres y peroxidación lipídica.....	26
3. Comparación de niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados.....	32
4. Obtención de modelos lineales generalizados de PAS, PAD y modelo logístico	32
Resultados	
1. Descripción de la población de estudio.....	34
2. Resultados sobre niveles de ácidos grasos libres (AGL) en la población general	39
2.1. Ácidos grasos libres (AGL) resultados en hombres y mujeres.....	40
2.2. Ácidos grasos libres (AGL) comparando pacientes controlados (<140/90 mmHg) vs. no controlados (≥140/90mmHg).....	43
2.3. Ácidos grasos libres (AGL) según tratamiento con antihipertensivos	45
3. Lípidos peroxidados (LPO) en la población general	47
3.1. Lípidos peroxidados (LPO) en hombres y mujeres.....	48
3.2. Lípidos peroxidados (LPO) en pacientes con la presión arterial controlada (<140/90 mmHg) vs. no controlada (≥140/90mmHg)	50
3.3. Lípidos peroxidados resultados según tratamiento antihipertensivo.....	52
4. Modelos de asociación entre PAS y PAD con niveles de AGL y LPO	52

4.1.	Covariables del modelo de asociación.....	52
4.2.	Modelos de asociación entre ácidos grasos libres (AGL), lípidos peroxidados (LPO) y la presión arterial (PAS o PAD)	54
4.3.	Modelo logístico, presión arterial controlada (Si=0, <140/90 mmHg) versus no controlada (No=1, ≥140/90 mmHg) como variable dicotómica.....	56
4.4.	Comparación entre valores reales de presión arterial (PA) y valores generados por los modelos	58
Discusión		
1.	La población de estudio presenta individuos con presión arterial no controlada y comorbilidades	62
2.	La media de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) en la población estudiada se encuentra en el rango reportado por otros estudios	62
2.1.	Los niveles de ácidos grasos libres (AGL) en hombres y mujeres son significativamente distintos	62
2.2.	La concentración de ácidos grasos libres (AGL) en pacientes controlados es menor en comparación con los no controlados	63
2.3.	Los niveles de ácidos grasos libres (AGL) se modifican por el tratamiento antihipertensivo	65
3.	Los niveles de lípidos peroxidados (LPO) en la población de estudio coinciden con los de estudios anteriores	65
3.1.	La concentración de lípidos peroxidados (LPO) no cambia significativamente en hombres y mujeres	66
3.2.	Los niveles de lípidos peroxidados (LPO) en pacientes controlados y no controlados no presentan diferencias significativas	66
4.	Los modelos de asociación entre PAS/PAD- Ácidos grasos libres y lípidos peroxidados no muestran una relación significativa	66
Conclusiones		68
Referencias		70
Anexos		
	Anexo 1. Tablas comparativas de los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en la población de estudio.....	75
	Anexo 2. Datos esperados y observados de presión arterial de acuerdo con los modelos lineales generalizados y el modelo logístico.....	78

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Preparación de la curva estándar de ácidos grasos libres (AGL)	28
Tabla 2. Preparación de la mezcla de enzimas de detección	29
Tabla 3. Preparación de estándar de malondialdehído (MDA)	31
Tabla 4. Características demográficas y clínicas de los pacientes en la población de estudio	36
Tabla 5. Características demográficas y clínicas de pacientes con la presión arterial controlada vs. no controlada	37
Tabla 6. Características demográficas y clínicas por sexo	39
Tabla 7. Resumen de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) por grupo	40
Tabla 8. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μM) estratificado por sexo, rango de edad, presión arterial (PA) y comorbilidades	41
Tabla 9. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μM) en la población de estudio considerando la edad, sexo y comorbilidades en pacientes controlados (<140/90 mm Hg) y no controlados (\geq 140/90 mm Hg)	43
Tabla 10. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) de acuerdo con el tratamiento antihipertensivo en pacientes hombres y mujeres	46
Tabla 11. Resumen de concentración de lípidos peroxidados (LPO) por grupo	47
Tabla 12. Concentración de lípidos peroxidados (LPO, μM) estratificado por sexo, rango de edad, presión arterial (PA) y comorbilidades. Todos los valores de p fueron mayores a 0.5 por lo que no se incluyen en la tabla	48
Tabla 13. Lípidos peroxidados (LPO, μM) en la población de estudio considerando la edad, sexo y comorbilidades en pacientes controlados (<140/90 mmHg) y no controlados (\geq 140/90 mmHg). Todos los valores de p fueron mayores a 0.5 por lo que no se incluyen en la tabla	50
Tabla 14. Variables colineales obtenidas de la correlación	53
Tabla 15. Parámetros del modelo lineal generalizado PAS	55

Tabla 16. Parámetros del modelo lineal generalizado PAD	56
Tabla 17. Parámetros del modelo logístico de presión controlada y no controlada	57
Tabla 18. Niveles de PAS esperados y observados en una submuestra de 20 pacientes	58
Tabla 19. Niveles de PAD esperados y observados en una submuestra de 20 pacientes	60
Tabla A1. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μM) en la población de estudio considerando el tratamiento antihipertensivo en pacientes controlados (<140/90 mmHg) versus no controlados (\geq 140/90 mmHg)	75
Tabla A2. Lípidos peroxidados (LPO, μM) en la población de estudio considerando el tratamiento antihipertensivo en pacientes controlados (<140/90 mmHg vs. no controlados (\geq 140/90 mmHg)	76
Tabla A3. Concentración de lípidos peroxidados (LPO, μM) de acuerdo con el tratamiento antihipertensivo en hombres y mujeres	77
Tabla A4. Niveles de PAS esperados y observados en la población de estudio	78
Tabla A5. Niveles de PAD esperados y observados en la población de estudio	83

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Producción de lípidos peroxidados a partir de un lípido poliinsaturado	21
Figura 2. Clases terapéuticas en la población de estudio	25
Figura 3. Principales comorbilidades en la población de pacientes hipertensos	26
Figura 4. Esquema de trabajo para la determinación de ácidos grasos libres (AGL), lípidos peroxidados (MDA) y obtención de modelos	26
Figura 5. Reacción enzimática que permite la determinación de ácidos grasos libres a través de su transformación colorimétrica a 570 nm para la producción de peróxido de hidrógeno a partir de ácidos grasos	28
Figura 6. Reacción entre malondialdehído (MDA) y ácido tiobarbitúrico (TBA) para la detección de lípidos peroxidados	30
Figura 7. Distribución de los niveles de PAS en la población de estudio	35
Figura 8. Distribución de los niveles de PAD en la población de estudio	35
Figura 9. Distribución de los niveles de PAS en mujeres y hombres	38
Figura 10. Distribución de los niveles de PAD en mujeres y hombres	38
Figura 11. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) en plasma en pacientes hombres y mujeres	42
Figura 12. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) en plasma en pacientes controlados y no controlados	45
Figura 13. Concentración de lípidos peroxidados (LPO) en plasma en pacientes hombres y mujeres	49
Figura 14. Concentración de lípidos peroxidados (LPO) en plasma en pacientes controlados y no controlados	51
Figura 15. Correlación entre variables clínicas en la población de estudio	53
Figura 16. Valores de PAS esperados y observados en la población de estudio	59
Figura 17. Valores de PAS esperados y observados en la población de estudio	61

ABREVIATURAS

AGL Ácidos grasos libres

ARAI Antagonistas de los receptores de angiotensina II

BB Beta bloqueadores

BBC Bloqueadores de canales de calcio

COSFAMM Cohorte de Sarcopenia y Fragilidad de Adultos Mayores

CT Colesterol total

DIU Diuréticos

HDL Lipoproteína de alta densidad

HTA Hipertensión arterial

IECAS Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

IMC índice de masa corporal

LDL Lipoproteína de baja densidad

LPO Lípidos peroxidados

LPL Lipoproteína lipasa

MDA Malondialdehído

PA Presión arterial

PAD Presión arterial diastólica

PAS Presión arterial sistólica

PPAR- α Receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa

TBARS Especies Reactivas de Ácido Tiobarbitúrico

TAG/TG Triacilglicéridos

VLDL Lipoproteína de muy alta densidad

RESUMEN

Las enfermedades cardiovasculares son la primera causa de muerte a nivel mundial con hasta 218,704 decesos por año en México (INEGI, 2020) y 17.3 millones en el mundo (OMS, 2021). La hipertensión arterial es uno de los factores que aumenta de dos a tres veces el riesgo de padecer alguna enfermedad cardiovascular. El desarrollo de la hipertensión es multifactorial y tiene una prevalencia de hasta el 50% en adultos mayores. Para su control existen alrededor de 60 medicamentos, sin embargo, el tratamiento no garantiza el mantenimiento de la presión arterial en <140/90 mm Hg. Actualmente, se investigan determinantes moleculares de esta falla terapéutica como la genética, lipidómica y el microbioma. El metabolismo de los lípidos está estrechamente relacionado con la hipertensión debido a su efecto aterogénico, el cual aumenta el estrés oxidativo, la apoptosis endotelial, la inflamación y la resistencia a insulina, los cuales resultan en el deterioro de la función vascular endotelial. Así el estudio de lipidoma parece contener marcadores clave que pueden explicar, en parte, el desarrollo y prognosis del padecimiento. Sin embargo, su investigación es costosa y requiere capacidades técnicas fuera del alcance actual, por lo que en este estudio investigaremos puntualmente los niveles de lípidos peroxidados y ácidos grasos libres en plasma en 344 adultos mayores hipertensos bajo tratamiento farmacológico en una submuestra de la cohorte COSFAMM de Centro Médico SXXI.

La cuantificación de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados se basó en ensayos bioquímicos, enzimático para ácidos grasos libres y la reacción con ácido tiobarbitúrico (TBARS) para lípidos peroxidados. Posteriormente, investigamos la correlación de los niveles de estos lípidos con la hipertensión clasificando a la población en controlada (<140/90 mm Hg) y no controlada (\geq 140/90 mm Hg). Analizamos la posible asociación “lípidos-hipertensión” estratificando por sexo y considerando variables clínicas relevantes como edad, índice de masa corporal, colesterol y triglicéridos.

Observamos que los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados tienen en promedio niveles de $383 \pm 228.9\mu\text{M}$ y $4.2 \pm 4.4 \mu\text{M}$, estos concuerdan con lo ya reportado. Al comparar entre grupos de pacientes aquellos con la presión no controlada presentan 5.5% y 2.4% mayores concentraciones de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados ($p=0.365$ y $p=0.606$, U de Mann-Whitney). También notamos que las mujeres tienen 16.8%

más ácidos grasos libres que los hombres ($p=0.0075$, U de Mann-Whitney) y que estas diferencias se mantienen en pacientes que reciben inhibidores del receptor de angiotensina II, pero no para el resto de las clases terapéuticas. En cuanto a los niveles de lípidos peroxidados no encontramos diferencias significativas entre grupos de pacientes, los sexos o clases terapéuticas. Los modelos de asociación arrojan una tendencia estadística de asociación entre niveles de colesterol total y la presión arterial, consistente con reportes previos.

La hipertensión y los niveles de estos lípidos son fenotipos complejos, de origen y progresión multifactorial, y a pesar de no haber encontrado significancias estadísticas en los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en grupos de pacientes esta investigación contribuye a su caracterización en población mestiza hipertensa, mayor a 65 años. Las tendencias observadas como las diferencias entre hipertensos controlados versus no controlados; hombres y mujeres y diferencias según el fármaco antihipertensivo podrán confirmarse o debatirse en futuros estudios que consideren ampliar la muestra e investigar el lipidoma describiéndolo químicamente de forma más específica.

ABSTRACT

Cardiovascular diseases are the leading cause of death worldwide with up to 218,704 deaths per year in Mexico (INEGI, 2020) and 17.3 million in the world (WHO, 2021). High blood pressure is one of the factors that increases the risk of cardiovascular disease by two to three times. The development of hypertension is multifactorial and has a prevalence of up to 50% in older adults. There are about 60 medications for its control, however, treatment does not guarantee maintenance of blood pressure at <140/90 mm Hg. Molecular determinants of this therapeutic failure are currently being investigated, such as genetics, lipidomics, and the microbiome. Lipid metabolism is closely related to hypertension due to its atherogenic effect, which increases oxidative stress, endothelial apoptosis, inflammation, and insulin resistance, all of which result in impaired vascular endothelial function. So, the study of lipidome seems to contain key markers that may explain, in part, the development and prognosis of the disease. However, its research is expensive and requires technical capabilities beyond the current scope, so in this study we will specifically investigate the levels of peroxidized lipids and free fatty acids in plasma in 344 hypertensive older adults under pharmacological treatment in a subsample of the COSFAMM cohort. of SXXI Medical Center.

The quantification of free fatty acids and peroxidized lipids was based on biochemical and enzymatic assays for free fatty acids and the reaction with thiobarbituric acid (TBARS) for peroxidized lipids. Subsequently, we investigated the correlation of the levels of these lipids with hypertension, classifying the population into controlled (<140/90 mm Hg) and uncontrolled (\geq 140/90 mm Hg). We analyzed the possible association "lipids-hypertension" stratifying by sex and considering relevant clinical variables such as age, body mass index, cholesterol, and triglycerides.

We observed that the levels of free fatty acids and peroxidized lipids have average levels of $383 \pm 228.9\mu\text{M}$ and $4.2 \pm 4.4\mu\text{M}$, these are consistent with what has already been reported. When comparing between groups of patients, those with uncontrolled pressure present 5.5% and 2.4% higher concentrations of free fatty acids and peroxidized lipids ($p=0.365$ and $p=0.606$, Mann-Whitney U). We also note that women have 16.8% more free fatty acids than men ($p=0.0075$, Mann-Whitney U) and that these differences are maintained in patients receiving angiotensin II receptor inhibitors, but not for the rest of the women. therapeutic

classes. Regarding the levels of peroxidized lipids, we did not find significant differences between patient groups, sexes, or therapeutic classes. The association models show a statistical trend of association between total cholesterol levels and blood pressure, consistent with previous reports.

Hypertension and the levels of these lipids are complex phenotypes, of multifactorial origin and progression, and despite not having found statistical significance in the levels of free fatty acids and peroxidized lipids in groups of patients, this research contributes to its characterization in the hypertensive mestizo population, older than 65 years. Trends observed as differences between controlled versus uncontrolled hypertensives; men and women and differences according to the antihypertensive drug can be confirmed or debated in future studies that consider expanding the sample and investigating the lipidome by describing it chemically in a more specific way.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial (OMS,2021). La morbilidad y mortalidad por estos padecimientos se ha incrementado conforme se eleva la esperanza de vida de la población y la prevalencia de algunos factores de riesgo, tales como dislipidemias, obesidad, consumo de tabaco e hipertensión arterial (Informe sobre la Salud de los Mexicanos, ISM 2015).

La hipertensión arterial (HTA) es un padecimiento de origen multifactorial caracterizado por la elevación persistente de presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) con valores mayores o iguales a 140/90 mm/Hg. Las principales causas para el desarrollo de hipertensión son la falta de actividad física, consumo excesivo de sal y alcohol, ingesta insuficiente de potasio, tabaquismo, sobrepeso u obesidad, diabetes, colesterol elevado, antecedentes familiares de hipertensión y tener más de 60 años¹. De acuerdo con cifras de la OMS, esta enfermedad afecta al 22% de la población mundial. La prevalencia es mayor en África con 27% seguida de la región del mediterráneo oriental con 26% y posteriormente el suroeste de Asia con 25%, las regiones con menor prevalencia son Europa, el Pacífico oeste y América con 23%, 19% y 18% respectivamente.

En México existen 15.2 millones de personas con hipertensión, y es una de las 10 principales causas de morbilidad según el ISM 2016, siendo la población de adultos mayores la más vulnerable, con una prevalencia del 50% en mayores de 65 años y de 18.4% en adultos de 20 años o más. Conforme incrementa la edad, crece el porcentaje de población con diagnóstico previo de hipertensión, principalmente a partir de los 50 años, llegando al 26.7% en el grupo de 70 a 79 años según lo reportado en 2018¹⁴.

Dentro de la proporción de adultos con diagnóstico previo de hipertensión arterial, el 79.3% reportó encontrarse en tratamiento farmacológico para controlar sus valores de presión arterial (Ensanut,2018). En la actualidad, existen diversas clases terapéuticas aprobadas (alrededor de 60 fármacos²) para controlar este padecimiento. Las más prescritas en México son los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) en un 63.8%, beta bloqueadores en 16.5%, diuréticos 19.8%, bloqueadores de los receptores de angiotensina 15.8% y bloqueadores de canales de calcio 6.4%⁷. Sin embargo, el tratamiento farmacológico no garantiza el control de los niveles de presión arterial (<140/90 mm Hg)³, solo la mitad de los pacientes alcanza la meta terapéutica², esto representa un reto para el

sistema de salud debido a las múltiples visitas médicas, ajustes de dosis, selección de fármacos, complicaciones cardiovasculares y deterioro considerable en la calidad de vida del paciente.

Es común que el paciente hipertenso presente comorbilidades como diabetes mellitus (20%⁴) y dislipidemia (50-75%⁵). En el caso de la diabetes como comorbilidad a la hipertensión se conoce que existe una superposición sustancial en la etiología y los mecanismos de las enfermedades. Se cree que la obesidad, la inflamación, el estrés oxidativo y la resistencia a la insulina son las vías más comunes⁶. La coexistencia de estos padecimientos confiere un riesgo drásticamente aumentado (de 2 a 4 veces) de enfermedad cardiovascular, enfermedad renal en etapa terminal y muerte, en comparación con los adultos normotensos y no diabéticos⁷.

En cuanto a dislipidemias, la hipercolesterolemia es una de las más comunes, en esta los niveles de colesterol superan los 200 mg/dL. La hipercolesterolemia ha sido asociada al aumento de lípidos peroxidados⁸ en plasma, también se sabe que existe una relación entre la peroxidación lipídica y ciertas enfermedades como diabetes, Alzheimer y Parkinson⁹. Se estima que en México el 52.5% de las personas hipertensas también presentan hipercolesterolemia¹⁰. La cohorte Tlalpan 2020 del Instituto Nacional de Cardiología cuyo objetivo es identificar los factores de riesgo a la hipertensión siguiendo voluntarios durante 10 años ha detectado a 70% de individuos hipertensos con dislipidemia. Aun cuando no existen datos de incidencia de hipertensión en esta cohorte todo indica que el desbalance de lípidos en plasma es una comorbilidad relevante en el desarrollo de la hipertensión.

Se ha reportado también que la diabetes y la dislipidemia, así como la hipertensión coexisten como comorbilidades en un mismo paciente. Por ejemplo, en un estudio de USA, el 85% de las personas con diabetes tipo 2 tenían hipertensión en la quinta década de la vida, mientras que el 50% de las personas con hipertensión experimentaron alteración de la tolerancia a la glucosa o diabetes tipo 2¹¹. Se calcula que 70% de los pacientes diabéticos presentan dislipidemia¹². Lo cual es similar a la incidencia de dislipidemia en el paciente hipertenso, sin embargo, la incidencia de hipertensión en pacientes diabéticos es mayor a la de pacientes hipertensos con diabetes.

Se conoce que el metabolismo de los lípidos está estrechamente relacionado con la hipertensión. Con base en lo anterior, este estudio propone investigar los niveles de lípidos peroxidados y ácidos grasos libres en plasma en una población de 344 adultos mayores pertenecientes a la Cohorte de Sarcopenia y Fragilidad de Adultos Mayores (COSFAMM),

diagnosticados con hipertensión y que además se encuentran bajo tratamiento con antihipertensivos.

Etiología de la hipertensión arterial

La presión arterial (PA) puede definirse como el producto del gasto cardíaco y la resistencia arterial periférica, estos dos parámetros están a su vez regulados por una compleja red de mecanismos renales, neurales, cardíacos, vasculares y endocrinos bajo la influencia de factores genéticos y ambientales, lo que define a la presión arterial como un rasgo poligénico multifactorial¹³. Genes dentro de cada uno de estos sistemas contribuyen a las funciones especializadas que regulan la presión arterial y, por lo tanto, es probable que muchos genes participen en el desarrollo y progresión de la hipertensión¹⁴ así como su falla al tratamiento¹⁵. Evidencia observacional indica un papel importante de la genética en la regulación de la presión arterial¹³.

Se han identificado polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) a través de estudios de genoma completo (GWAS) asociados con la presión arterial que explican aproximadamente el 27% de la heredabilidad estimada del 30-50% de este fenotipo. Otros estudios de la misma clase han identificado varios cientos de SNPs en genes como *APOE* rs2075650¹⁶, *ADRB1* rs2782980¹⁴ y *ATP2B1* rs11105354¹⁴ entre otros, asociados a la hipertensión, vale la pena enfatizar que varios de estos genes como *ADIPOQ*¹⁷ y *LPL*¹⁸ codifican para la síntesis o catabolismo de lípidos.

Además del desarrollo y regulación de la hipertensión, la genómica también puede explicar, en parte, la variación que existe en la respuesta de un paciente a ciertos fármacos, campo de estudio de la farmacogenómica. Por ejemplo, mediante un estudio de gen candidato que incluyó sujetos blancos y afroamericanos, se encontró que el polimorfismo rs1458038 en el gen *FGF5* se asocia con una mejor respuesta al tratamiento con un betabloqueador, la hidroclorotiazida, lo cual explicó el 4.3% de la PAS ($p < 0.01$) y el 5.3% de la PAD ($p \leq 0.01$) en respuesta a la monoterapia en sujetos blancos¹⁹. Los estudios genómicos logran explicar hasta el 30% de la variabilidad en la respuesta a antihipertensivos²⁰.

Relevancia de los lípidos en la hipertensión arterial

Ácidos grasos

Los ácidos grasos son ácidos monocarboxílicos que contienen cadenas hidrocarbonadas de longitudes variables, pueden clasificarse en saturados si contienen enlaces sencillos

entre carbonos o insaturados con uno o varios enlaces dobles. Son componentes esenciales de triacilgliceroles y numerosas moléculas lipídicas unidas a membranas. En humanos, el hígado es el principal centro de síntesis de ácidos grasos, aunque la mayor parte de los ácidos grasos se obtienen de la dieta. La presencia de uno o más enlaces dobles hace a los ácidos grasos susceptibles a la oxidación, los dobles enlaces son poco flexibles y requieren menos energía de rompimiento en comparación con los sencillos en los ácidos grasos saturados. Algunos ácidos grasos no se encuentran esterificados, a estos se les conoce como ácidos grasos libres, son la principal fuente de energía para el miocardio ya que brindan cerca de un 70% de ATP al corazón, la energía restante es proveída por la glucosa.

En una dieta rica en grasas los triglicéridos son llevados desde el intestino delgado hacia la circulación en forma de quilomicrones, después la lipoproteína lipasa (LPL) los transforma a ácidos grasos libres los cuáles son captados por el músculo para ser aprovechados como fuente de energía, o bien, ser almacenados en como triglicéridos en el tejido adiposo. Los ácidos grasos libres provienen principalmente del tejido adiposo a través de la lipólisis y son productos del metabolismo de las lipoproteínas²¹. La lipólisis se activa cuando el individuo se encuentra en ayuno, situaciones de estrés o en condiciones de enfermedad, cuando los niveles de glucosa son bajos, para su activación son necesarias hormonas como el glucagón o la epinefrina. Los ácidos grasos no esterificados provenientes de los adipocitos son liberados hacia la circulación sanguínea donde se unen a la albúmina sérica y al encontrarse frente a un transportador de ácidos grasos entran a la célula sirviendo como fuente de energía mediante la β -oxidación, el ciclo del ácido cítrico y la cadena de transporte de electrones⁶³.

En individuos sanos, el metabolismo de los ácidos grasos libres está estrictamente regulado (niveles normales, 0.1-0.7 mmol/L²²), ya que no sólo sirven como depósito de energía en al esterificarse en forma de triacilglicéridos (TAG) en los adipocitos, sino que también son precursores de todas las membranas celulares, cuando forman los fosfolípidos²³. El exceso de ácidos grasos libres (> 1.0 mmol/L²⁴) se ha asociado con padecimientos como la hipertensión debido a su efecto aterogénico, el cual aumenta el estrés oxidativo, la apoptosis endotelial, la inflamación y la resistencia a insulina, todos estos desajustes resultan en el deterioro de la función vascular endotelial^{21,25}. Grandes concentraciones de ácidos grasos libres conducen al aumento de sus especies oxidadas por las mitocondrias, la β -oxidación de ácidos grasos y la oxidación de acetil-CoA derivada de estos por el ciclo de Krebs genera los mismos donantes de electrones (NADH y FADH₂) aumentando la

oxidación de AGL y la sobreproducción mitocondrial de especies reactivas de oxígeno (EROs)²⁶.

Transporte y oxidación lipídicos

Los lípidos de la dieta se transportan alrededor del cuerpo a través de las lipoproteínas. Las lipoproteínas transportan los lípidos en sangre a través de todos los órganos. Los quilomicrones movilizan los lípidos exógenos y lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) los lípidos endógenos mientras que las lipoproteínas de baja densidad (LDL) llevan el colesterol hacia las células y las lipoproteínas de alta densidad (HDL) disminuyen el exceso de colesterol de las células retornándolo al hígado para su eliminación. Los quilomicrones, las VLDL y sus remanentes, así como, las LDL son consideradas partículas aterogénicas, mientras que las HDL son lipoproteínas anti-aterogénicas. Niveles altos de triglicéridos se asocian a HDL colesterol disminuido y a la presencia de partículas pequeñas y densas de LDL formando la triada aterogénica.

En la última década se ha investigado el papel de estas lipoproteínas por su papel en la salud y la enfermedad^{27,28,29} ya que las LDL transportan lípidos desde el hígado hacia otros tejidos, mientras que las HDL lo hacen en el sentido opuesto, es importante considerar las características químicas indicativas de oxidación dentro de la perspectiva fisiológica porque un lípido poliinsaturado podría manifestar efectos contrarios en la salud según si es acarreado por una LDL o una HDL. Una proteína que contribuye a la oxidación de lípidos es el receptor activado por proliferadores de peroxisomas alfa (PPAR- α), su activación disminuye la síntesis y secreción de VLDL, aumenta el HDL plasmático, disminuye las concentraciones de triglicéridos y aumenta la oxidación de ácidos grasos.

Es posible asumir que niveles elevados de ciertos lípidos o ácidos grasos en plasma como el colesterol, triglicéridos o LDL tienen un efecto sobre la salud, potencialmente como agentes promotores del estrés oxidativo³⁰. Sin embargo, hoy en día no se realizan mediciones de los estados de oxidación lipídica, caracterizando lípidos individuales y clasificándolos según su potencial redox en sangre o tejidos.

La importancia de conocer la asociación entre la hipertensión y los niveles de estrés oxidativo proveniente de la peroxidación lipídica radica en el entendimiento de la fisiología de este padecimiento. Las EROs como el superóxido, peróxido de hidrógeno y, los radicales

hidroxilos funcionan como reguladores de la función endotelial y el tono vascular mediante la proliferación celular y la apoptosis³¹. Si la cantidad de estas especies aumenta y no existen moléculas que neutralicen sus efectos como la catalasa, glutatión, superóxido dismutasa (SOD), vitamina A y vitamina E³² (antioxidantes), se habla de un estado oxidante que altera macromoléculas involucradas en estados patológicos como la hipertensión. En modelos de ratas espontáneamente hipertensas ampliamente usadas para el estudio de la hipertensión esencial se ha observado que la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) está disminuida mientras que las EROs se encuentran aumentadas. Por ejemplo, el anión superóxido actúa como vasoconstrictor y es determinante en la biosíntesis del NO³³ pero, la NO sintasa (NOS) genera superóxido en lugar de NO en respuesta a estímulos aterogénicos. Bajo esas circunstancias, la NOS puede convertirse en un generador de peroxinitrito (ONOO⁻) provocando efectos perjudiciales sobre el funcionamiento de la vasculatura e incrementando el estrés oxidativo³³.

Las ERO pueden reaccionar con lípidos sobre todo con aquellos que contienen enlaces dobles carbono-carbono como los ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS, por sus siglas en inglés) resultando en radicales peroxilo e hidroxiperóxidos (Figura 1)³⁰. Estos radicales causan una variedad de reacciones secundarias, las cuales en últimas instancias generan aldehídos, cetonas, ácidos y otras sustancias volátiles de bajo peso molecular³⁴. Zhong y colaboradores demostraron que los lípidos peroxidados contribuyen al desarrollo de la aterosclerosis provocando vulnerabilidad y ruptura plaquetarias a través de la generación de radicales libres como el peroxilo de ácido graso proveniente de la peroxidación lipídica⁴.

Es importante enfatizar que actualmente no existen valores de referencia de oxidación lipídica, se conoce que algunos lípidos son más susceptibles que otros a la oxidación y los lípidos poliinsaturados encabezan la secuencia, siendo fácilmente oxidados debido a los pares de electrones conjugados en los dobles enlaces, así tenemos que se facilita la oxidación lipídica en este orden, poliinsaturados > monoinsaturados > saturados. Mientras los lípidos poliinsaturados contribuyen a los procesos oxidativos, otros lípidos con grupos funcionales tipo éter como algunos plasmalógenos funcionan como antioxidantes³⁵.

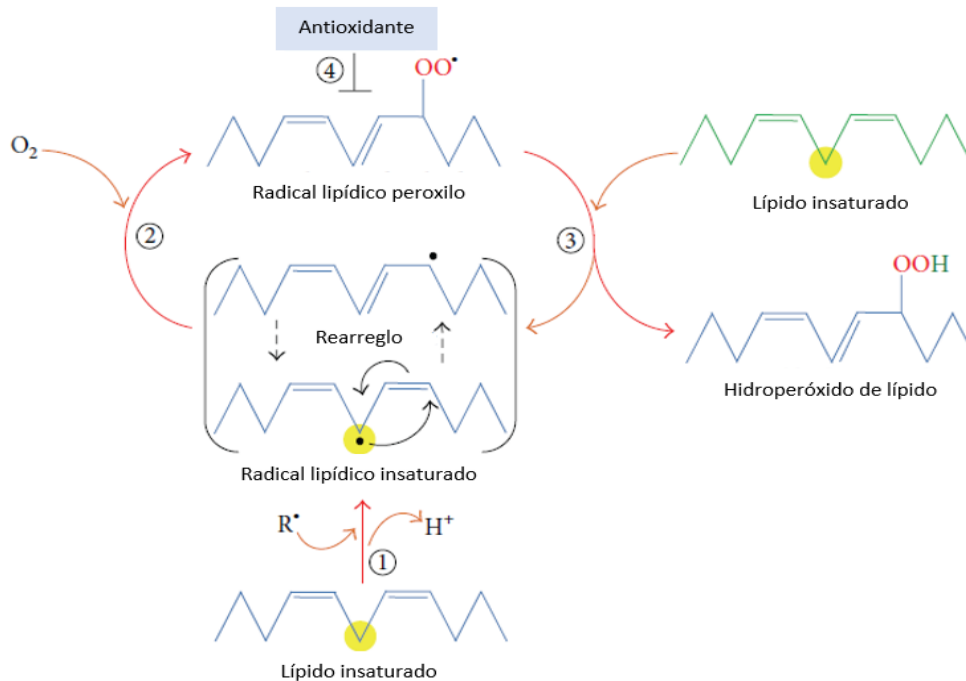


Figura 1. Producción de lípidos peroxidados a partir de un lípido poliinsaturado³⁶.

Por tanto, todavía es escaso el conocimiento que existe entre la asociación de lípidos potencialmente dañinos y enfermedades como la hipertensión, aún no se definen las características químicas de estos lípidos. Estrategias metabolómicas han intentado definir con precisión la relación entre especies lipídicas oxidadas y estados de salud³⁷ pero tecnológicamente todavía no son asequibles, actualmente el análisis de lípidos individuales en plasma puede costar entre 6 mil y 10 mil pesos. Este trabajo intenta cerrar parte de esta falta de conocimiento al realizar mediciones de oxidación lipídica y su potencial asociación con la hipertensión en pacientes bajo tratamiento. La propuesta representa una avenida poco explorada cuyo propósito específico es investigar y definir a) los niveles de peroxidación lipídica y ácidos grasos libres en plasma de pacientes hipertensos bajo tratamiento y b) investigar la asociación entre estos valores de peroxidación lipídica y ácidos grasos libres con la presión arterial. En este proyecto se investigan los valores de peroxidación lipídica en pacientes con presión arterial bajo control, es decir $\leq 110/62$ mm Hg versus aquellos de pacientes con la presión arterial alta $\geq 155/100$ mm Hg.

JUSTIFICACIÓN

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte a nivel mundial, entre los principales factores de riesgo se encuentra la hipertensión arterial. Aproximadamente

54% de los accidentes cerebrovasculares y el 47% de las enfermedades coronarias en todo el mundo son atribuibles a la presión arterial alta³⁸.

La hipertensión ha visto un incremento en su prevalencia debido al envejecimiento de las poblaciones y el aumento en las expectativas de vida. De acuerdo con proyecciones realizadas por la OMS, la población de adultos mayores a nivel mundial crecerá de un 12% (2015) a un 22% para el año 2050. Esto se traduce de 900 millones de adultos mayores a 2000 millones (≥ 60 años). En México, el 66% de adultos mayores padece hipertensión comparado con el 34% de adultos entre 20 y 59 años (ENSANUT 2016). En 2015, la población de adultos mayores tenía el mayor índice de envejecimiento en comparación con los demás estados, 61.7 adultos mayores por cada 100 menores de 15 años y se proyecta que incremente hasta 108.7 para 2030³⁹.

A pesar de la existencia de alrededor de 60 fármacos pertenecientes a 6 clases terapéuticas contra la hipertensión², 1 de cada 2 pacientes no logran controlar su presión arterial con la terapia farmacológica inicial, lo que conlleva a múltiples visitas médicas dificultando el seguimiento del paciente y que ellos sean participes de este control. Hoy en día no existen marcadores consistentemente validados para la identificación de pacientes con mayor probabilidad de éxito al tratamiento farmacológico. Por tales motivos, es necesario identificar marcadores que contribuyan a la elección del tratamiento o que enriquezcan la información acerca del estado de la enfermedad para guiar hacia el control de la hipertensión de forma más precisa. Investigaciones actuales listan potenciales marcadores en estudios genómicos, transcriptómicos, proteómicos y metabolómicos. Este estudio está enfocado a investigar las alteraciones en los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados y su relación con los valores de presión arterial en pacientes adultos mayores bajo tratamiento antihipertensivo. El interés en el estudio de estos metabolitos esta dado por varias razones, por ejemplo, estudios afirman que los ácidos grasos libres pueden incrementar el tono neurovascular por un aumento en la sensibilidad del adrenoreceptor-1 α e inhibir la vasodilatación dependiente de endotelio y también proponen que los ácidos grasos libres pueden regular la secreción de aldosterona e inhibir la óxido nítrico sintasa promoviendo la vasoconstricción, así como, el aumento de la presión arterial⁴⁰. Por otro lado, el estrés oxidativo se ha relacionado ampliamente con la hipertensión, estudios que demuestran los efectos reductores de la presión arterial de antioxidantes, eliminadores de EROs e inhibidores de la NADPH oxidasa (Nox) respaldan aún más el papel del estrés oxidativo en la fisiopatología de la hipertensión. El tratamiento con vitaminas antioxidantes

(vitaminas C y E), captadores de radicales libres (N acetil-L cisteína), inhibidores inespecíficos de Nox (apocinina) reducen el estrés oxidativo y mejoran o previenen el desarrollo de hipertensión y el daño asociado a órganos diana⁴¹.

La caracterización de la concentración de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en plasma ayudará en el diagnóstico, la identificación del progreso de la hipertensión, incluso en para contribuir a una prescripción acertada desde la primera visita médica, lo cual disminuirá costos, mejorará el apego terapéutico y disminuirá la deserción al tratamiento.

HIPÓTESIS

Los niveles plasmáticos de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados serán más altos en pacientes hipertensos con valores de presión arterial no controlada ($\geq 140/90$ mm Hg) a comparación de aquellos con hipertensión controlada ($< 140/90$ mm Hg) debido a que en condiciones patológicas existe una desregulación en la lipólisis lo cual incrementa los niveles de ácidos grasos libres, posteriormente las EROs causadas por el estrés oxidativo producto del envejecimiento e hipertensión reaccionan con las grandes cantidades de ácidos grasos libres generando un incremento de lípidos peroxidados.

OBJETIVO GENERAL

- a) Determinar los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en pacientes con hipertensión arterial bajo tratamiento antihipertensivo.

OBJETIVOS PARTICULARES

- a) Caracterizar y comparar niveles de ácidos grasos libres y peroxidación lipídica en plasma, entre pacientes hipertensos controlados ($< 140/90$ mm Hg) y no controlados ($\geq 140/90$ mm Hg).
- b) Identificar si existe una asociación entre niveles de ácidos grasos libres, peroxidación lipídica y la presión arterial.

METODOLOGÍA

1. Población de estudio

Submuestra (N=344) de adultos mayores de la Cohorte de Obesidad, Sarcopenia y Fragilidad en Adultos Mayores de México (COSFAMM) del Centro Médico SXXI-IMSS

Criterios de inclusión

- Adultos de 60 años o más con diagnóstico de hipertensión arterial sistémica por un médico y en tratamiento con al menos un fármaco antihipertensivo.
- Pacientes con apego terapéutico medio o alto según el cuestionario Morisky-Green⁴².

Criterios de exclusión

- Adultos mayores con hipertensión arterial secundaria y aquellos con historia clínica incompleta primordialmente aquellos con los que no se cuenta con la información del historial farmacológico.
- Pacientes con bajo apego terapéutico.
- Pacientes con enfermedades crónicas como cáncer.

El reclutamiento de pacientes se llevó a cabo en Centro Médico Nacional SXXI entre 2016 y 2019. El protocolo de estudio fue aprobado por los comités de ética del INMEGEN (número 23/2016/1) y de Centro Médico (CEI009-20160601). Las muestras de sangre se tomaron en tubos con anticoagulante EDTA, fueron centrifugadas a 3000 rpm por 15 minutos y el plasma alicuotado en microtubos, los cuales se almacenaron a -70 °C hasta su análisis.

El presente es un estudio: descriptivo, observacional y comparativo.

Todos los pacientes fueron diagnosticados como hipertensos por su médico tratante en las Unidades de Medicina Familiar del IMSS y por la coordinación de la cohorte de obesidad, sarcopenia y fragilidad (COSFAMM) del Centro Médico Nacional SXXI-IMSS en la CDMX. Los pacientes se encuentran bajo tratamiento antihipertensivo con fármacos que pertenecen a 5 diferentes clases terapéuticas, el 57% (N=196) toman antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II) como losartán y telmisartán, 33.1% (N=114) utilizan inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAS) como captopril y enalapril, 28.2% (N=97) toman diuréticos (DIU) como hidroclorotiazida y furosemida, 26.5% (N=91) consumen bloqueadores de canales de calcio (BCC) como amlodipino y verapamilo, y

25.3% (N=87) utilizan β -bloqueadores (BB) como propanolol y metoprolol. El 51.5% (N=177) de los pacientes están bajo tratamiento con un antihipertensivo o monoterapia, 30.8% (N=106) en terapia dual, 14.2% (N=49) en terapia combinada con tres fármacos antihipertensivos, 3.2% (N=11) terapia combinada con 4 fármacos y el 0.29% (N=1) terapia combinada con 5 fármacos (Figura 2).

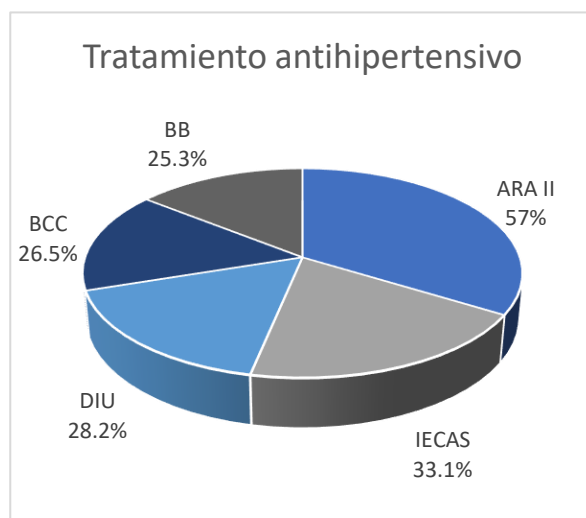


Figura 2. Clases terapéuticas en la población de estudio. ARA II: Antagonistas de los receptores de angiotensina II, IECAS: Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, DIU: Diuréticos, BCC: Bloqueadores de canales de calcio y BB: Beta bloqueadores.

En esta población se observan 25 comorbilidades, el 10.2% (N=35) padecen únicamente hipertensión. El 40.4% (N=139) de la población tiene dislipidemia según la definición de la NOM-037-SSA2-2012, el 39.8% (N=137) padece diabetes mellitus tipo 2 (DT2), 34.3% (N=118) son obesos y el 4.07% (N=14) padecen hipotiroidismo. En una proporción menor al 2.0%, individuos de la población están diagnosticados con otras enfermedades como arritmia cardíaca 1.7% (N= 6), asma 0.29% (N= 1), bronquitis 0.29% (N= 1), enfermedad de circulación pulmonar 0.29% (N= 1), enfermedad pulmonar crónica 0.58% (N= 2), enfermedad valvular cardíaca 0.87% (N= 3), enfermedad vascular periférica 0.29% (N= 1), esteatosis hepática 0.29% (N= 1), glaucoma 0.58% (N= 2), hepatitis A 0.29% (N= 1), hiperplasia prostática 1.16% (N= 4), insuficiencia cardíaca congestiva 0.58% (N= 2), insuficiencia renal 0.58% (N= 2), neumonía 0.29% (N= 1), neuropatía diabética 0.29% (N= 1), osteoartritis 0.58% (N= 2), osteoporosis 0.87% (N= 3), y trombosis 0.29% (N= 1). En la figura 3 se observan las proporciones de los 3 padecimientos principales.

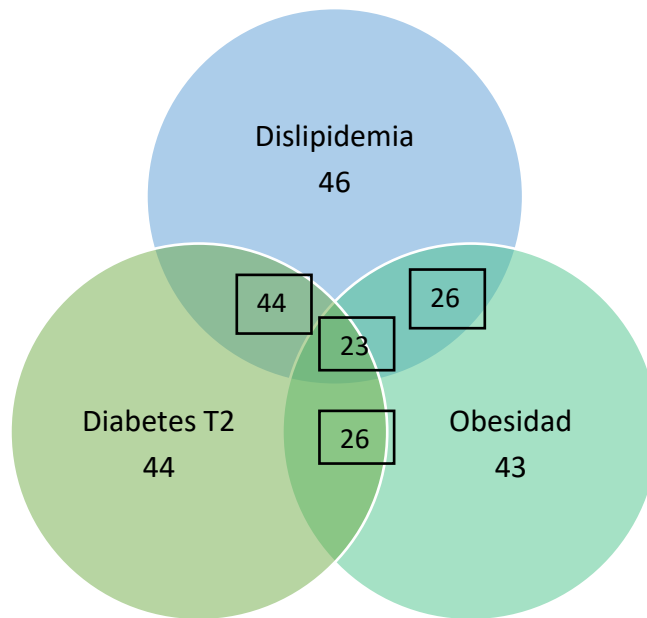


Figura 3. Principales comorbilidades en la población de pacientes hipertensos.

2. Determinación de ácidos grasos libres y peroxidación lipídica.

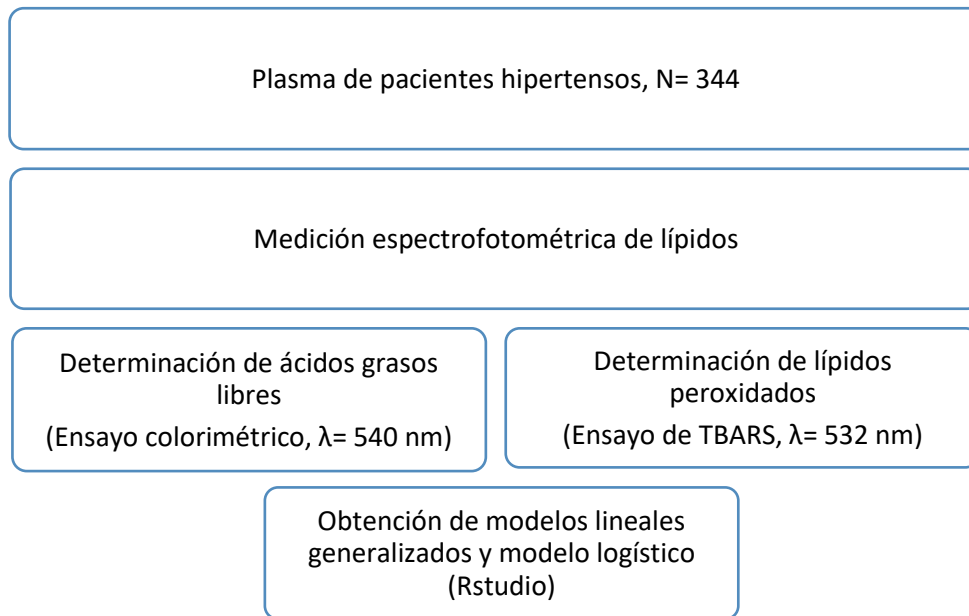


Figura 4. Esquema de trabajo para la determinación de ácidos grasos libres, lípidos peroxidados y obtención de modelos. TBARS: Ensayo de especies reactivas de ácido tiobarbitúrico.

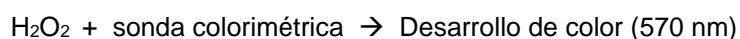
Preparación de la muestra de plasma para el análisis de lípidos

El análisis lipídico se inició con el descongelamiento de las muestras de plasma en condiciones frías bajo hielo y su dilución 1:10 (N=295), 1:15 (N=24), 1:5 (N=22), 1:2 (N=7) o sin dilución (N=7) para asegurar que las concentraciones de ácidos grasos libres estuvieran dentro de la curva de calibración definida por los lineamientos del kit comercial *Free Fatty Acid Assay Kit ensayo colorimétrico* de Cell Biolabs Inc. (STA-618, San Diego, USA), los fabricantes indican que las concentraciones promedio de estos lípidos en plasma humano se encuentran entre 150 y 450 micromolar (μM). Las muestras de plasma usadas en la determinación de lípidos peroxidados no necesitaron dilución previa, para tales mediciones se utilizó el kit comercial *OxiSelect TBARS Assay Kit* de Cell Biolabs, Inc. (STA-330, San Diego, USA).

Se determinó la concentración de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en plasma de los 344 pacientes que conforman la población.

Determinación de ácidos grasos libres

Los niveles de ácidos grasos libres se determinaron en plasma utilizando la metodología basada en una reacción enzimática con el ensayo colorimétrico, *Free Fatty Acid Assay Kit ensayo colorimétrico* de Cell Biolabs Inc. (STA-618, San Diego, USA). El ensayo determina niveles de ácidos grasos libres no esterificados (NEFA, por sus siglas en inglés) en plasma mediante tres reacciones catalizadas por enzimas (ACS-ACOD Method) en un ensayo tipo ELISA. La reacción enzimática comienza cuando la acil-CoA sintetasa (ACS) cataliza la acilación de los ácidos grasos del plasma para formar la acil-CoA. Posteriormente, el producto acil-CoA es oxidado por la acil-CoA oxidasa (ACOD) produciendo peróxido de hidrógeno, el cual reacciona con la sonda colorimétrica comercial de este ensayo y se cuantifica espectrofotométricamente a 570 nm (Figura 5)¹¹. La intensidad de la absorbancia a 570nm es directamente proporcional a la concentración de AGL, el valor de absorbancia de cada muestra es interpolado a la curva de calibración la cual fue preparada diariamente. El ensayo es capaz de detectar únicamente ácidos grasos libres de cadena larga a partir de 8 átomos de carbono i.e >C8.



*La primera reacción es catalizada por ACS, la segunda por la ACOD y la tercera por la peroxidasa (POD).

Figura 5. Reacción enzimática que permite la determinación de ácidos grasos libres a través de su transformación colorimétrica a 570 nm para la producción de peróxido de hidrógeno a partir de ácidos grasos.

Preparación de la curva estándar para ácidos grasos libres.

Se calentó el estándar de ácido palmítico (C16) a 37°C por 10 minutos. Después se mezcló bien utilizando un agitador hasta que la disolución fue homogénea y se encontró libre de cristales. Posteriormente, se prepararon diluciones en serie con el estándar en un rango de concentración de 0µM – 500µM a partir de la disolución stock (50 mM) en buffer de ensayo 1X (Tabla 1). Las diluciones de AGL y estándares se prepararon y leyeron al momento.

Tabla 1. Preparación de la curva estándar de ácidos grasos libres (AGL).

Tubos	50 Mm de estándar de AGL (µL)	Buffer de ensayo 1X (µL)	Concentración final de AGL (µM)
1	10	990	500
2	500 del tubo 1	500	250
3	500 del tubo 2	500	125
4	500 del tubo 3	500	62.5
5	500 del tubo 4	500	31.25
6	500 del tubo 5	500	15.63
7	500 del tubo 6	500	7.81
8	0	500	0

Se siguió el procedimiento de acuerdo con las instrucciones del proveedor²². El 10% (N=35) del de las muestras se midió por duplicado. La curva estándar se midió por duplicado en cada microplaca utilizada diariamente.

a. El primer paso consistió en agregar 10 µL de cada muestra diluida o no, según corresponda, estándar de ácidos grasos libres o blanco en la microplaca de 96 pocillos.

b. Se añadieron 200 μL de mezcla enzimática A 1X a cada pocillo. La mezcla contiene la enzima ACS, ATP y CoA necesarias para la acilación de los ácidos grasos en plasma.

c. Se cubrió la microplaca para proteger la reacción de la luz y se incubó a 37°C por 30 minutos.

e. Durante la incubación del paso anterior, se preparó el volumen deseado de mezcla enzimática de detección de acuerdo con la tabla 2, basada en el número de muestras a analizar, por ejemplo, para analizar 100 muestras se necesitan 10.2mL de mezcla enzimática. Se mantuvieron todos los componentes y la mezcla a 4°C durante este paso, después se agregaron los componentes siguiendo esta secuencia:

- En un tubo, se añadió el volumen apropiado, para 100 muestras se utilizan 10mL de mezcla enzimática B 1X. Esta mezcla contiene a la ACOD.
- A la mezcla enzimática B 1X fue agregado el volumen correspondiente de reactivo NEM (N-etilmaleimida), para 100 muestras son necesarios 100 μL . Los reactivos fueron mezclados exhaustivamente.
- Se colocó el volumen correspondiente de sonda colorimétrica, para 100 muestras son necesarios 100 μL . Se mezcló bien y usó inmediatamente.

La mezcla de enzimas de detección tuvo un color ligeramente rosado. Este es el fondo normal (blanco) y se restó de todos los valores de absorbancia.

Tabla 2. Preparación de la mezcla de enzimas de detección.

Mezcla enzimática B 1X (mL)	Reactivo NEM (μL)	Sonda colorimétrica (μL)	Mezcla enzimática total (mL)	# de ensayos por placa (100 μL /ensayo)
10	100	100	10.2	100
5	50	50	5.1	50
2.5	25	25	2.55	25

*Mezcla enzimática B 1X: contiene a la enzima ACOD, NEM: N-etilmaleimida.

f. Fueron transferidos 100 μL de la mezcla de enzimas de detección a cada pocillo (del paso 4) y la microplaca se cubrió por protección de la reacción a la luz, en este paso se formó el H_2O_2 el cual fue detectado por medio de la sonda colorimétrica incluida en el kit. Se incubó a 37°C por 10 minutos y leyó la absorbancia a 570 nm en un lector de microplacas.

g. Como último paso, se calculó la concentración de ácidos grasos libres en las muestras por extrapolación de absorbancias con la curva estándar. El valor del control negativo (sin ácidos grasos libres) fue restado previo a cualquier cálculo.

Determinación de lípidos peroxidados

Este ensayo se basa en una reacción química por el ataque del malondialdehído (MDA) al grupo metileno activo del ácido tiobarbitúrico (TBA) formando un complejo colorido detectable a 532nm, lo cual es proporcional a la concentración de MDA que indica la extensión de la formación de radicales libres, del estrés oxidativo y del daño a tejidos⁴³. Los ensayos se realizaron usando el kit, *OxiSelect TBARS Assay Kit* de Cell Biolabs, Inc. (STA-330, San Diego, USA).

El ensayo colorimétrico permite medir la concentración de MDA presente en las muestras de plasma en una relación 2:1 de TBA con MDA (Figura 6). La cuantificación de los productos finales de la peroxidación lipídica es uno de los ensayos más aceptados para la medición del daño provocado por el estrés oxidativo. Los aldehídos como productos secundarios de la peroxidación lipídica (malondialdehído) están definidos como biomarcadores del estrés oxidativo mientras que las sustancias reactivas de ácido tiobarbitúrico (TBARS) se han establecido como herramientas para el monitoreo de la peroxidación lipídica⁵⁸. El ensayo de TBARS ha provisto de información relevante concerniente a la actividad de los radicales libres en estados de enfermedad y la medición de varios compuestos con características antioxidantes⁵⁸. A la fecha (04/2021), de acuerdo con una revisión bibliográfica en Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=TBARS>), se encuentra que existen alrededor de 17,000 artículos que utilizan esta técnica como indicador de peroxidación lipídica.

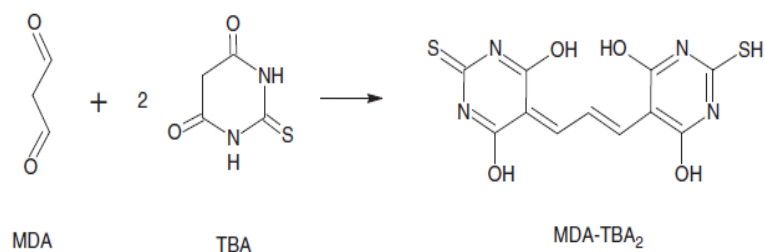


Figura 6. Reacción entre malondialdehído (MDA) y ácido tiobarbitúrico (TBA) para la detección de lípidos peroxidados. El MDA puede encontrarse en el plasma sanguíneo como producto de la peroxidación lipídica de ácidos grasos poliinsaturados.

Preparación de las muestras y curva estándar

Se prepararon una serie de diluciones de estándar de MDA, producto de la degradación procedente del proceso de lipoperoxidación de lípidos polinsaturados. Las diluciones se realizaron con agua destilada o desionizada y cubrieron un rango de concentración de 0 μ M - 125 μ M (Tabla 3).

Tabla 3. Preparación de estándar de malondialdehído (MDA).

Tubos	Estándar de MDA (μ L)	Agua (μ L)	Concentración de estándar de MDA (μ M)
1	125 μ L	875 μ L	125
2	250 μ L del tubo 1	250 μ L	62.5
3	250 μ L del tubo 2	250 μ L	31.25
4	250 μ L del tubo 3	250 μ L	15.63
5	250 μ L del tubo 4	250 μ L	7.81
6	250 μ L del tubo 5	250 μ L	3.91
7	250 μ L del tubo 6	250 μ L	1.95
8	250 μ L del tubo 7	250 μ L	0.98
9	250 μ L del tubo 8	250 μ L	0.0

Preparación de muestras para la determinación de lípidos peroxidados

La lectura y preparación de las muestras se realizó por duplicado para el 10% del total de muestras y la curva estándar se midió por duplicado por cada microplaca utilizada. El procedimiento fue el siguiente:

Se añadieron 100 μ L de muestra o estándar de MDA a microtubos de 1.5mL.

- Fueron agregados 100 μ L de solución SDS de lisis contenida en el kit tanto a las muestras como a los estándares. Se mezcló exhaustivamente. Los microtubos se incubaron por 5 min a temperatura ambiente.
- Se colocaron 250 μ L de reactivo TBA a cada muestra o estándar a analizar con el fin de que este reaccione con el MDA presente en el plasma. Se cerró cada tubo y se incubó a 95°C por 45-60 minutos, en este paso se formó el complejo MDA-TBA₂. Es necesario calentar para que la mayor parte de los lípidos peroxidados presentes en la muestra se degraden hasta MDA. Además, la reacción se lleva a cabo en medio ligeramente ácido debido a que el MDA no es estable a pH neutro^{44,45}.

- c. Los tubos fueron removidos y se mantuvieron en un baño de hielo por 5 min, posteriormente se centrifugaron a 3000 rpm por 15 min.
- d. Se tomó el sobrenadante para su análisis.
- e. Se realizó una extracción con butanol para prevenir la interferencia de hemoglobina y sus derivados:
 - Fueron transferidos 300µL del sobrenadante (inciso e.) a un nuevo tubo, se agregaron 300µL de n-butanol. Posteriormente, se usó el vórtex vigorosamente entre 1-2 minutos y centrifugó por 5 min a 10000 g.
 - Se transfirió la fracción de butanol a un nuevo tubo para su medición.
- f. Por último, se transfirieron 200µL de estándar de MDA y de muestra a cada uno de los 96 pocillos de la microplaca compatible con un lector de placa espectrofotométrico. Las muestras se leyeron a una longitud de onda de 532 nm para obtener valores de absorbancia y mediante una curva estándar calcular su concentración correspondiente de MDA.

3. Comparación de niveles de ácidos grasos libres (AGL) y lípidos peroxidados (LPO).

Se realizaron comparaciones entre pacientes controlados versus no controlados y pacientes hombres versus mujeres, los análisis incluyeron la subdivisión de la población por edad, de acuerdo con las 3 comorbilidades más frecuentes (dislipidemia, diabetes y obesidad) y el tratamiento con antihipertensivos (por clase terapéutica: ARA II, IECAS, BCC y diuréticos). Debido a que ninguna distribución de los datos pasó las pruebas de normalidad de Shapiro-Wilk o Kolmogórov-Smirnov, se utilizó la prueba U de Mann-Whitney para cada una de las comparaciones.

4. Generación de modelos lineales generalizados de PAS, PAD y modelo logístico.

Con el propósito de identificar posibles asociaciones entre los niveles de ácidos grasos libres o peroxidados con los niveles de presión arterial, se desarrollaron modelos lineales de asociación, definiendo a la presión arterial como variable de respuesta desarrollando así dos modelos, uno que defina la presión arterial sistólica y otro la presión arterial diastólica como variables de respuesta i.e., “Y” en el modelo matemático. Posteriormente, se desarrollaron dos modelos tomando como variable de respuesta el control de la presión arterial, el “0” representa a pacientes controlados (PA<140/90 mm Hg) y el “1” representa a

aquellos no controlados ($PA \geq 140/90$ mm Hg). En total se generaron 3 modelos, dos usando las presiones como variables continuas y uno como variables dicotómicas.

Los modelos lineales generalizados constan de lo siguiente:

$$Y = (\beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_n X_n)$$

β_0 : es la ordenada en el origen, el valor de la variable dependiente Y cuando todos los predictores son cero.

β_n : es el coeficiente parcial de regresión.

Antes del desarrollo de los modelos es importante eliminar covariantes que se encuentren correlacionadas entre sí con el objetivo de obtener modelos más precisos y evitar el uso de covariantes confusoras.

Selección de covariantes

La selección de las covariantes que conforman el modelo de asociación se realizó siguiendo los pasos a continuación.

a. Se determinó la colinealidad de las covariantes a través del coeficiente de correlación de Spearman, el cual es utilizado para analizar datos no paramétricos, se empleó el software GraphPad Prism versión 8.0 (GraphPad software y California San Diego, EUA). Un coeficiente de correlación con valor absoluto mayor a 0.499 y un valor de $p < 0.05$ indicó la existencia de colinealidad, de esas covariantes correlacionadas sólo una de ellas se introdujo en el modelo.

c. Para la selección de las covariantes que formaron parte de los modelos se eligió solo una de cada grupo de covariantes colineales por medio de un análisis de componentes principales. Las covariantes con mayor variabilidad de acuerdo con el valor absoluto del score más alto correspondientes al 70% de la variación total y con base en la proporción acumulada de cada componente. Para este paso se utilizó la paquetería "Rcmdr" versión 2.7-1 del software RStudio.

Después de la selección de covariantes se desarrollaron los modelos lineales generalizados, los datos no siguen una distribución normal y tampoco tienen una distribución exponencial o logarítmica, así que se consideró una distribución gaussiana. Para el modelo donde la variable dependiente es el control de la presión arterial (0: controlados, 1: no controlados) se obtuvo un modelo logístico.

Una vez obtenidos los modelos, se analizó la efectividad de predicción utilizando el Criterio de Información Akaike (AIC), en un análisis “forward-reverse”, en el cual se eliminan del modelo una a una las covariantes hasta considerar únicamente las más predictivas. El criterio de información Akaike (AIC) es un estimador muestral de la esperanza de la log-verosimilitud. El AIC se define mediante la siguiente función:

$$AIC(k) = -2 \ln L [\hat{\Theta}(k)] + 2k$$

donde $L [\hat{\Theta}(k)]$ es la función de máxima verosimilitud de las observaciones, $\hat{\Theta}(k)$ la estimación máximo verosímil del vector de parámetros Θ y k el número de parámetros independientes estimados dentro del modelo. El primer término de AIC puede ser interpretado como una medida de bondad de ajuste, mientras el segundo término es una penalización creciente conforme aumenta el número de parámetros, es decir, cuanto más aumenta el número de parámetros aumenta el valor de AIC. El mejor modelo que se ajusta, según AIC, es aquel con menor valor. Las ventajas que posee el AIC son su simplicidad y facilidad a la hora de implementarse. AIC es una medida global de la bondad de ajuste del modelo.

Con el propósito de evaluar la capacidad predictiva de los modelos, se calcularon y compararon los valores de PAS y PAD de la población con los valores generados por los modelos, estas comparaciones se sometieron a la prueba estadística Wilcoxon ya que las distribuciones no son normales, las diferencias entre los valores reales y los generados por los modelos fueron graficadas.

RESULTADOS

1. Descripción de la población de estudio.

La COSFAMM es una cohorte del Centro Médico Nacional Siglo XXI que consta de 1252 pacientes, la cual representa el 0.29% de la población de adultos mayores de la Ciudad de México que se encuentran afiliados al IMSS⁴⁶.

La submuestra aquí estudiada está conformada por 231 pacientes con hipertensión arterial controlada (<140/90 mm Hg, 67.2%) y 113 con hipertensión arterial no controlada (\geq 140/90 mm Hg, 32.8%) de acuerdo con lo definido en la página 15. En la tabla 4, se muestran las características demográficas que comparan pacientes controlados vs. no controlados, se distinguen valores con relevancia significativa ($p < 0.05$) en cuanto a pulso, PAS y PAD. Las diferencias significativas en las cifras de presión se esperaban ya que con base en ellas se

construyó la tabla. Con la finalidad de tener una visualización más completa acerca del comportamiento de los niveles de presión arterial se muestran dos histogramas (Figuras 7-8), se observa que los datos de PAS y PAD no siguen una distribución normal.

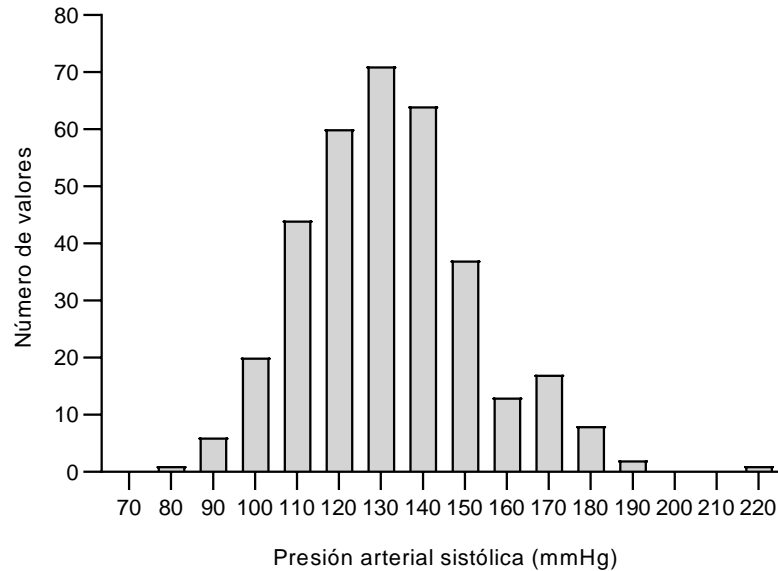


Figura 7. Distribución de los niveles de PAS en la población de estudio.

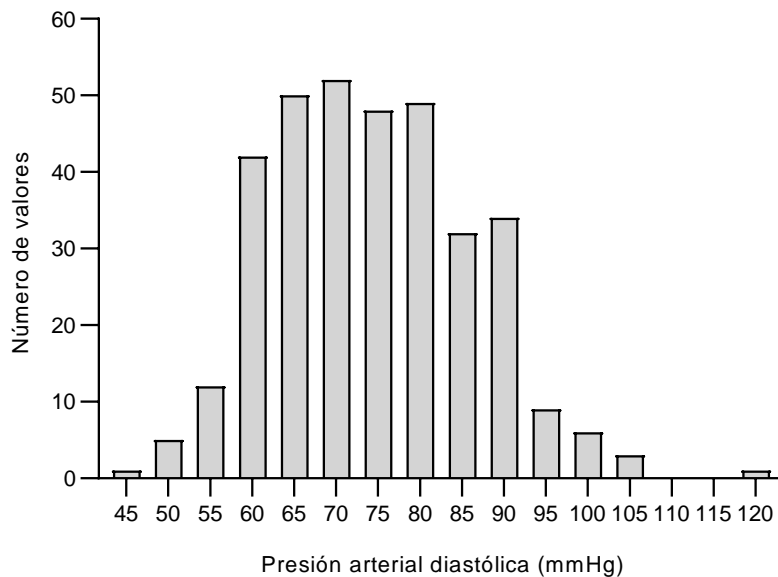


Figura 8. Distribución de los niveles de PAD en la población de estudio.

De los adultos mayores que conforman este estudio, el porcentaje de obesos es de 78.9%, lo cual concuerda con los datos de ENSANUT de 2016 dónde la prevalencia combinada de sobrepeso y obesidad en adultos con 20 años y más fue del 72.5%. La proporción de obesos en ambos sexos es 6.4 puntos mayor en adultos mayores que en adultos con 20

años y más. Al igual que los resultados de la encuesta, las prevalencias tanto de sobrepeso como de obesidad fueron más altas en el sexo femenino (Tabla 6).

Otra enfermedad común entre los individuos de nuestra población es la hipercolesterolemia, las mujeres tienen una prevalencia del 10.9% y los hombres del 5.7%. La ENSANUT 2016 señala que el 28% de los adultos reportó tener un diagnóstico previo de hipercolesterolemia, siendo el grupo más afectado el de adultos entre 50 a 79 años. La proporción es 17 puntos menor en la población de estudio (11%), considerando que sólo 229 (66.6%) pacientes cuentan con cifras de colesterol total. Además, el diagnóstico previo de esta enfermedad suele ser mayor en mujeres que en hombres (70.5% vs 48.6%) según la ENSANUT, aunque las proporciones son distintas entre las poblaciones, se presenta el mismo fenómeno en el que las mujeres son las más afectadas.

El 39.8% (N= 137) de los adultos mayores de este estudio presentan diabetes, puede notarse que la proporción es mucho mayor debido a que se trata de adultos de 60 años o más, estas estadísticas no son comparables con los datos de ENSANUT la cual reporta que el 9.4% de los adultos mexicanos encuestados (20 años o más) refirieron tener un diagnóstico médico previo de diabetes, por lo que sería importante analizar los datos de la ENSANUT por rango de edades.

Tabla 4. Características demográficas y clínicas de los pacientes en la población de estudio.

Característica clínica	Total, N= 344
Edad, años	69.5 ± 6.7 (60.0-95.0)
IMC, kg/m²	29.1 ± 7.6 (19.4-137.1)
Pulso	71.6 ± 12.5 (44.0-126.0)
PAS, mm Hg	131.9 ± 20.3 (79.0-217.0)
PAD, mm Hg	74.2 ± 11.7 (46.0-119.0)
Glucosa, mg/dL, N=229	108.6 ± 31.7 (50.0-272.0)
Triglicéridos, mg/dL, N=229	153.4 ± 63 (36.0-372.0)
Colesterol, mg/dL, N=229	185.2 ± 41.4 (81.0-326.0)
c-HDL, mg/dL, N=229	49.1 ± 12.6 (16.0-92.0)
c-LDL, mg/dL, N=229	106.2 ± 34.2 (23.0-225.4)
Diabetes tipo 2	137.0
Dislipidemia, N=229	139.0
Obesidad	118.0

Tabla 5. Características demográficas y clínicas de pacientes con la presión arterial controlada vs. no controlada.

Característica clínica	Controlados (<140/90 mm Hg) N= 231	No controlados (≥140/90 mm Hg) N= 113	Diferencia (Valor de p)
Edad, años	69.5 ± 6.5 (60.0-92.0)	69.6 ± 7.0 (60.0-95.0)	0.890
IMC, kg/m²	29.2 ± 8.5 (19.4-137.1)	28.9 ± 5.2 (21.5-53.5)	0.930
Pulso	70.3 ± 11.8 (44.0-126.0)	74.2 ± 13.6 (44.0-118.0)	0.0107
PAS, mm Hg	121 ± 12.3 (79.0-139.0)	154 ± 14.8 (114.0-217.0)	< 0.0001
PAD, mm Hg	69.9 ± 9.3 (46.0-89.0)	83.1 ± 11.1 (58.0-119.0)	< 0.0001
Glucosa, mg/dL, N=229	106.0 ± 27.3 (50.0-272.0)	115.3 ± 40.5 (80.0-256.0)	0.750
Triglicéridos, mg/dL, N=229	150.0 ± 61.1 (36.0-359.0)	162.3 ± 67.2 (64.0-432.0)	0.210
Colesterol, mg/dL, N=229	183.1 ± 40.2 (86.0-318.0)	190.5 ± 44.2 (81.0-326.0)	0.230
c-HDL, mg/dL, N=229	49.4 ± 12.1 (16.0-92.0)	48.5 ± 13.9 (22.8-82)	0.530
c-LDL, mg/dL, N=229	104.7 ± 32.6 (23.0-225.0)	110.0 ± 38.0 (33.0-225.4)	0.530
Diabetes tipo 2	92.0	45.0	0.990
Dislipidemia, N=229	98.0	41.0	0.550
Obesidad	80.0	38.0	0.850

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney, t de Student o χ^2 según corresponda.

Asimismo, la población está conformada por 168 hombres (48.8%) y 176 mujeres (51.2%), con una edad promedio total de 69.5±6.5 años. En la tabla 6, se observan las características demográficas entre hombres y mujeres, se distinguen valores con relevancia significativa ($p < 0.05$) en las cifras de IMC, niveles de PAD, colesterol total, LDL y HDL cuando se comparan estos parámetros entre hombres y mujeres. A excepción de los valores de PAD, las características antes mencionadas están incrementadas en el grupo femenino. Aunado a lo anterior, en las figuras 9-10 se observan las distribuciones de los niveles de presión arterial sistólica y diastólica en hombres y mujeres, puede notarse que los datos no siguen una distribución normal de acuerdo con la prueba de Shapiro-Wilk (Figura 9, valor de p mujeres=0.0165 y valor de p hombres=0.0024; figura 10, valor de p mujeres=0.0013) a excepción del grupo de hombres de la figura 10 (valor de p=0.128).

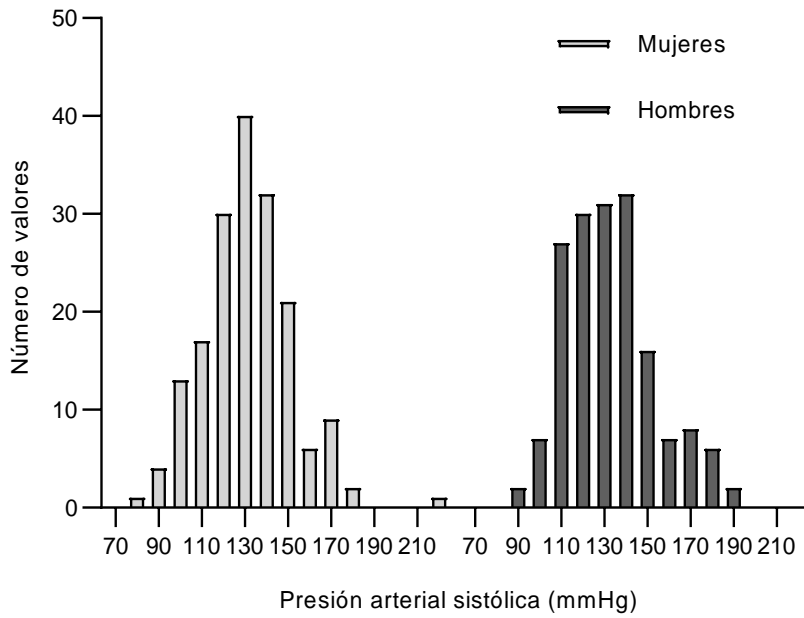


Figura 9. Distribución de los niveles de PAS en mujeres y hombres.

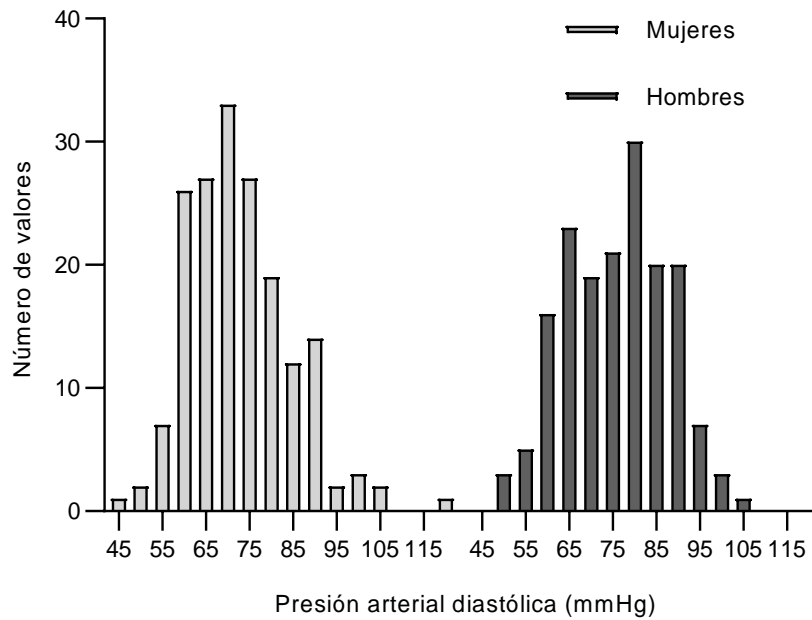


Figura 10. Distribución de los niveles de PAD en mujeres y hombres.

Tabla 6. Características demográficas y clínicas por sexo.

Característica clínica	Hombres N=168	Mujeres N=176	Diferencia (Valor de p)
Edad, años	69.4 ± 6.7 (60.0-95.0)	69.7 ± 6.6 (60.0-92.0)	0.500
IMC, kg/m²	28.9 ± 9.5 (21.1-137.1)	29.3 ± 5.1 (19.4-53.5)	0.0386
Pulso	71.4 ± 13.3 (46-110)	71.8 ± 11.8 (44.0-126.0)	0.713
PAS, mm Hg	132.6 ± 20.4 (89.0-188.0)	131.2 ± 20.3 (79.0-217.0)	0.739
PAD, mm Hg	75.7 ± 11.6 (49.0-107.0)	72.8 ± 11.7 (46.0-119.0)	0.0063
Glucosa, mg/dL, N=229	111.8 ± 37.4 (50.0-272.0)	106.2 ± 26.3 (66.0-220.0)	0.371
Triglicéridos, mg/dL, N=229	151.8 ± 68.2 (36.0-372.0)	154.7 ± 58.8 (64.0-359.0)	0.471
Colesterol, mg/dL, N=229	171.7 ± 40.1 (81.0-273.0)	195.8 ± 39.4 (94.0-326.0)	<0.0001
c-HDL, mg/dL, N=237	44.3 ± 10.7 (22.8-78)	53.9 ± 12.8 (16.0-92.0)	<0.0001
c-LDL, mg/dL, N=229	97.9 ± 33.3 (23-197.4)	112.7 ± 33.5 (24-225.4)	0.0023
Diabetes tipo 2	66.0	71.0	0.842
Dislipidemia, N=229	62.0	77.0	0.851
Obesidad	46.0	72.0	0.0084

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney, t de Student o χ^2 según corresponda.

2. Resultados sobre niveles de ácidos grasos libres (AGL) en la población general

En la población estudiada la concentración de ácidos grasos libres se encontró en el rango de 5.5-1454 μ M, el fabricante del kit comercial que fue utilizado menciona que los niveles normales son de 150-450 μ M²², en concordancia estudios realizados en Suecia reportan valores normales de 293 μ M⁴⁷ e investigaciones en Países Bajos definen niveles normales de 520 μ M²⁴, estos últimos están ligeramente por encima del intervalo sugerido por el fabricante. Sin embargo, los niveles reportados por los estudios antes mencionados son en condiciones de enfermedad, en el primero, diabetes tipo 2 y en el segundo, microangiopatía, resistencia a la insulina e hipertensión, son 333 μ M y 910 μ M respectivamente. Puede observarse que los intervalos no están bien definidos y que varían mucho entre poblaciones, por ejemplo, nuestra población arrojó niveles de hasta 1454 μ M, 2364 puntos

por encima del valor máximo reportado en la investigación de Países Bajos, los cuales fueron obtenidos por dilución de muestra.

La tabla 7 lista las concentraciones de ácidos grasos en la población general, la diferencia entre hombres y mujeres, y la comparación entre pacientes con la presión arterial controlada y no controlada. Al comparar hombres y mujeres se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p= 0.0075$), las cuales se describen con más detalle en la sección 2.1.

Tabla 7. Resumen de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) por grupo.

Concentración de ácidos grasos libres (AGL)		
Población	μM	Valor de p
Total, N=344	383.0 \pm 228.9 (5.5-1454.0)	--
Hombres, N= 168	352.6 \pm 227.9 (5.5-1454)	0.0075
Mujeres, N= 176	412.0 \pm 226.7 (16.4-1344.0)	
Controlados (<140/90 mm Hg), N= 231	375.8 \pm 227.6 (5.5-1454.0)	0.365
No controlados (\geq 140/90 mm Hg), N= 113	397.7 \pm 231.8 (16.4-1344.0)	

**Cifras de AGL comparadas por sexo y por control de la presión arterial. El valor de p indica si existen diferencias significativas entre grupos.*

2.1. Ácidos grasos libres (AGL) resultados en hombres y mujeres.

La concentración de ácidos grasos libres (μM) en plasma se reporta en la tabla 8, se distinguen entre pacientes hombres vs. mujeres, la tabla incluye estratificación por controlados y no controlados, edad y presencia o ausencia de las 3 comorbilidades más frecuentes (dislipidemia, diabetes y obesidad).

La figura 11 muestra el comportamiento de los datos de concentración de ácidos grasos libres, en hombres la concentración máxima observada fue 1454 μM y en mujeres fue de 1344 μM , sin embargo, la media de los datos en mujeres (412 μM) en comparación con los hombres (353 μM) tienen valores ligeramente más altos, lo cual concuerda con estudios relacionados que señalan que la concentración de ácidos grasos libres es mayor en mujeres que en hombres⁴⁸.

Se hallaron diferencias significativas en los valores de ácidos grasos libres entre hombres y mujeres ($p=0.0075$), en el subgrupo de pacientes con la presión controlada $<140/90$ mm Hg ($p=0.0284$) y en pacientes de 71-80 años ($p=0.0156$). También se observaron diferencias significativas en los niveles de ácidos grasos libres de pacientes sin comorbilidad ($p=0.0269$), sin dislipidemia ($p=0.0001$), sin diabetes ($p=0.0518$) y en pacientes obesos ($p=0.0343$). En todos los casos el nivel de ácidos grasos libres es mayor en mujeres que en hombres, sin embargo, las diferencias encontradas provienen de la disparidad dada entre la concentración de éstos entre hombres y mujeres, por lo que sólo puede considerarse válida la diferencia entre sexo.

Tabla 8. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μM) estratificado por sexo, rango de edad, presión arterial (PA) y comorbilidades.

Concentración de ácidos grasos libres (μM)				
	Total N=344	Hombres N= 168	Mujeres N= 176	Valor de p
Población total	383.0 \pm 228.9 (5.5-1454.0)	352.6 \pm 227.9 (5.5-1454.0)	412.0 \pm 226.7 (16.4-1344.0)	0.0075
Controlados	N= 231 375.7 \pm 228.1 (5.5-1454.0)	N= 107 347.5 \pm 236.3 (5.5-1454.0)	N= 124 399.8 \pm 219.0 (17.0-1304.0)	0.0284
No controlados	N= 113 397.7 \pm 231.8 (16.4-1344.0)	N= 61 360.7 \pm 216.2 (19.2-1123.0)	N= 52 441.2 \pm 243.8 (16.4-1344.0)	0.0885
Edad				
60-70 años	N= 218 375.3 \pm 229.6 (5.5-1454.0)	N= 103 359.0 \pm 251.6 (5.5-1454.0)	N= 115 389.9 \pm 207.9 (16.4-1026.0)	0.1189
71-80 años	N= 96 391.8 \pm 225.1 (17.0-1344.0)	N= 51 336.6 \pm 185.7 (19.2-720.9)	N= 45 454.5 \pm 250.4 (17.0-1344.0)	0.0156
81-95 años	N= 30 410.6 \pm 240.4 (103.7-1304.0)	N= 14 363.9 \pm 190.4 (103.7-697.7)	N= 16 451.4 \pm 276.5 (121.7-1304.0)	0.498
Comorbilidades				
Sin comorbilidad	N= 35 436.5 \pm 238.0 (108.0-1304.0)	N= 18 354.4 \pm 181.1 (108.0-798.0)	N= 17 523.5 \pm 264.4 (240.9-1304.0)	0.0269

Dislipidemia	N= 139	N= 62	N= 77	0.868
	426.9 ± 215.6 (101.4-1454.0)	425.1 ± 239.7 (101.4-1454.0)	428.4 ± 195.6 (124.9-1026.0)	
Sin dislipidemia	N= 90	N= 39	N= 51	0.0001
	410.2 ± 214.6 (103.7-1344.0)	320.6 ± 160.8 (103.7-798.0)	478.7 ± 226.5 (201.8-1344.0)	
Diabetes	N= 137	N= 66	N= 71	0.1204
	399.0 ± 204.0 (55.9-1454.0)	376.7 ± 234.6 (57.0-1454.0)	419.7 ± 169.9 (55.9-905.3)	
Sin diabetes	N= 207	N= 102	N= 105	0.0518
	372.4 ± 243.9 (5.5-1344.0)	337.0 ± 223.2 (5.5-1123.0)	406.9 ± 258.8 (16.4-1344.0)	
Obesidad	N= 118	N= 46	N= 72	0.0343
	392.0 ± 204.7 (16.4-1105.0)	345.9 ± 221.1 (32.6-1105.0)	421.5 ± 189.2 (16.4-905.3)	
Sin obesidad	N= 226	N= 122	N= 104	0.1155
	378.3 ± 240.9 (5.5-1454.0)	355.1 ± 231.2 (5.5-1454.0)	405.5 ± 250.1 (17.0-1344.0)	

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney. Los valores se reportan con la media ± la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo. Comparaciones y valor de p realizadas entre hombres y mujeres.

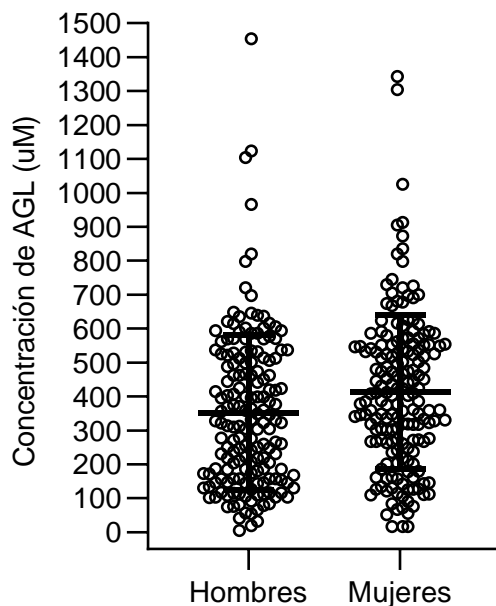


Figura 11. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) en plasma en pacientes hombres y mujeres. Las líneas en el interior indican a los extremos una desviación estándar y al centro la media.

2.2. Ácidos grasos libres (AGL) comparando pacientes controlados (<140/90 mmHg) vs. no controlados (≥140/90 mmHg).

La concentración de ácidos grasos en plasma se reporta en la tabla 9, se distinguen entre pacientes controlados vs. no controlados, la tabla incluye estratificación por sexo, edad y presencia o ausencia de las 3 comorbilidades más frecuentes (dislipidemia, diabetes y obesidad) y la figura 12 esquematiza el comportamiento de los datos. En pacientes no controlados puede notarse que la concentración de ácidos grasos libres es 110 puntos menor al valor máximo obtenido en los niveles de pacientes controlados (1454 μ M), esto podría deberse a una mayor oxidación de grasas producto del estrés oxidativo aumentado en pacientes no controlados. A pesar de lo anterior, el promedio y las desviaciones estándar entre controlados y no controlados es similar, al igual que sus valores mínimos y máximos (controlados (<140/90 mm Hg): 375.8 \pm 227.6 μ M (5.5-1454 μ M), no controlados (≥140/90 mm Hg): 397.7 \pm 231.8 μ M (16.4-1344 μ M)). La tabla 9 incluye el análisis por sexo, edad y comorbilidades, se observa que no se encontraron diferencias significativas entre pacientes controlados vs no controlados.

Tabla 9. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μ M) en la población de estudio considerando la edad, sexo y comorbilidades en pacientes controlados (<140/90 mmHg) y no controlados (≥140/90 mmHg).

Concentración de ácidos grasos libres (μ M)			
	Total, N=344	Controlados (<140/90 mm Hg), N= 231	No controlados (≥140/90 mm Hg), N= 113
Población total	383.0 \pm 228.9 (5.5-1454.0)	375.8 \pm 227.6 (5.5-1454.0)	397.7 \pm 231.8 (16.4-1344.0)
Mujeres	N= 176 412.0 \pm 226.7 (16.4-1344.0)	N= 124 399.8 \pm 219 (17.0-1304.0)	N= 52 441.2 \pm 243.8 (16.4-1344.0)
Hombres	N= 168 352.6 \pm 227.9 (5.5-1454.0)	N= 107 348.0 \pm 235.2 (5.5-1454.0)	N= 61 360.7 \pm 216.2 (19.2-1123.0)
60-70 años	N= 218 375.3 \pm 229.6 (5.5-1454.0)	N= 148 373.4 \pm 236.9 (5.5-1454.0)	N= 70 379.3 \pm 214.9 (16.4-1123.0)
71-80 años	N= 96 391.8 \pm 225.1 (17.0-1344.0)	N=62 381.7 \pm 192.0 (17.0-720.9)	N=34 410.3 \pm 277.9 (19.2-1344.0)

81-95 años	N=30	N=21	N= 9
	410.6 ± 240.4 (103.7-1304.5)	375.0 ± 266.3 (103.7-1304.5)	493.7 ± 145.2 (335.3-705.4)
Sin comorbilidad	N= 35	N= 27	N= 8
	436.5 ± 238.0 (108.0-1304.0)	450.7 ± 247.0 (108.0-1304.0)	388.8 ± 212.7 (187.2-798.0)
Dislipidemia	N=139	N= 98	N= 41
	426.9 ± 215.6 (101.4-1454.0)	419.0 ± 233.7 (101.4-1454.0)	445.9 ± 165.3 (117.7-872.3)
Sin dislipidemia	N= 89	N= 66	N= 23
	410.3 ± 215.8 (103.7-1344.0)	397.7 ± 199.2 (103.7-1304.0)	446.4 ± 259.3 (105.4-1344.0)
Diabetes	N= 136	N= 91	N= 45
	399.0 ± 204.8 (55.9-1454.0)	403.6 ± 219.9 (55.9-1454.0)	389.7 ± 172.2 (57.0-677.2)
Sin diabetes	N= 207	N= 139	N= 68
	372.4 ± 243.9 (5.5-1344.0)	357.4 ± 232.3 (5.5- 1304.0)	403.1 ± 265.0 (16.4-1344.0)
Obesidad	N=118	N=80	N=38
	392.0 ± 204.7 (16.4-1105.0)	400.5 ± 208.6 (32.6-1105.0)	374.2 ± 197.8 (16.4-819.8)
Sin obesidad	N= 225	N= 150	N= 75
	378.2 ± 241.4 (5.5-1454.0)	362.5 ± 237.5 (5.5- 1454.0)	409.7 ± 247.6 (19.2-1344.0)

* Los valores de significancia no se reportan debido a que no fueron significativos en ningún caso. Los valores se reportan con la media ± la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

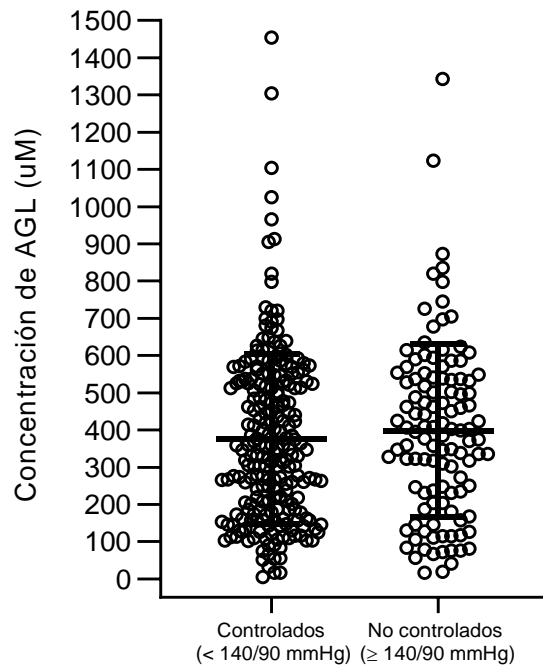


Figura 12. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) en plasma en pacientes controlados y no controlados. *Las líneas en el interior indican a los extremos una desviación estándar y al centro la media.

2.3. Ácidos grasos libres (AGL) según tratamiento con antihipertensivos.

Se realizó una comparación de los niveles de ácidos grasos libres (μM) según la clase terapéutica prescrita para cada paciente. Se obtuvieron diferencias significativas entre hombres y mujeres tratados con ARA II, con un valor de $p=0.0287$ (Tabla 10). Las mujeres que toman ARA II mostraron niveles más altos (59.4 puntos) de AGL que los hombres, es posible que esta diferencia tenga que ver con la bioquímica de su fisiología i.e. obesidad. Se ha reportado que el metabolismo de lípidos sufre alteraciones debidas al consumo de ARA II, ya que la angiotensina II puede inhibir el reclutamiento de preadipocitos, lo que resulta en el almacenamiento de lípidos en el músculo y otros tejidos, aumentando la resistencia a la insulina⁴⁹. Los ARA II al inhibir la conversión de angiotensina I a angiotensina II incrementa la cantidad de ácidos grasos libres al evitar que estos se almacenen en el tejido adiposo. Sin embargo, como se mencionó anteriormente la diferencia proviene de la disparidad dada entre la concentración de AGL entre hombres y mujeres, por lo que sólo puede considerarse válida la diferencia entre sexo.

Tabla 10. Concentración de ácidos grasos libres (AGL) de acuerdo con el tratamiento antihipertensivo en pacientes hombres y mujeres.

Concentración de ácidos grasos libres (μM)				
Población total	Total N=344	Hombres N= 168	Mujeres N= 176	Valor de p
	383.0 \pm 228.9 (5.5-1454.0)	352.6 \pm 227.9 (5.5-1454.0)	412.0 \pm 226.7 (16.4-1344.0)	0.0075
Tratamiento con antihipertensivos				
ARA II	N= 196	N= 101	N= 95	0.0287
	400.3 \pm 245.2 (5.5-1454.0)	371.5 \pm 255.4 (5.5-1454.0)	430.9 \pm 231.4 (17.0-1344.0)	
IECAS	N= 114	N= 54	N= 60	0.622
	361.1 \pm 195.5 (16.5-1026.0)	345.5 \pm 175.8 (74.03-697.7)	375.0 \pm 212.2 (16.5-1026.0)	
BCC	N= 91	N= 46	N= 45	0.0984
	425.7 \pm 282.5 (17.0-1454.0)	382.3 \pm 272.9 (19.2-1454.0)	470.2 \pm 288.3 (17.0-1344.0)	
Diuréticos	N= 97	N= 40	N= 57	0.116
	393.4 \pm 203.8 (17.0-965.7)	354.2 \pm 216.9 (41.4-965.7)	420.8 \pm 191.3 (17.0-819.8)	

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney. Los valores se reportan con la media \pm la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

De igual manera se comparó la concentración de ácidos grasos libres en pacientes controlados y no controlados de acuerdo con el tratamiento antihipertensivo. En hipertensos sin control la concentración fue mayor por 21.9 puntos ($397.7 \pm 231.8\mu\text{M}$) en comparación con los pacientes controlados ($375.8 \pm 227.6\mu\text{M}$) pero las diferencias no alcanzaron significancia estadística, $p=0.365$ tal vez ampliando el tamaño de la población esta comparación podría esclarecerse con base en lo reportado con anterioridad^{40,50} (anexo, tabla A1).

En resumen, no se encontraron diferencias significativas en la cantidad de AGL en pacientes controlados vs. no controlados. Al comparar los niveles de AGL entre hombres y mujeres se observan diferencias significativas siendo las mujeres quienes presentan niveles de AGL más elevados y aunque no se observan diferencias en el subgrupo de pacientes de 60-70 años, 81-95 años, con dislipidemia, con diabetes, sin obesidad, aquellos en tratamiento con IECAS, BCC y diuréticos. Si se observan diferencias entre los sexos con diabetes, dislipidemia y obesidad además de que en pacientes entre 71 y 80 años existe

diferencias entre los sexos casi de igual magnitud en significancia que al considerar toda la muestra de hombres vs. mujeres. Finalmente, se observan diferencias entre los sexos cuando están bajo tratamiento con antihipertensivos de la clase terapéutica ARAll, lo cual podría deberse a diferencias entre los sexos o al mecanismo de acción de estos medicamentos, lo cual se discutirá más adelante.

3. Lípidos peroxidados (LPO) en la población general.

El análisis de lípidos peroxidados, descartó 6 individuos clasificados como controlados y 7 no controlados ya que sus valores de LPO al ser extrapoladas en la curva de calibración fueron menores a cero.

Los niveles de lípidos peroxidados en la población se reportaron entre 0.043-31.8 μ M. En un estudio realizado en 2019 en otra submuestra de esta misma cohorte (COSFAMM) se obtuvieron niveles de lípidos peroxidados entre 10-100 μ M³⁹ por medio del ensayo de TBARS mismo que se usó en nuestra investigación, el valor máximo obtenido por ellos fue 68.2 puntos mayor al determinado en nuestra submuestra. Investigadores en la India reportan niveles de referencia de lípidos peroxidados de 4.0-5.7 μ M, en diabéticos de 7.9 μ M y en hipertensos de 9.0 μ M^{51,43}. En nuestra población la concentración promedio de LPO fue de 4.2 μ M es decir dentro del rango de referencia reportado para la población de la India quienes usaron el mismo método de cuantificación de peroxidación lipídica (MDA). La tabla 11 lista las concentraciones obtenidas en la población general, la diferencia entre hombres y mujeres, y la comparación entre individuos con la presión arterial controlada versus no controlada.

Tabla 11. Resumen de concentración de lípidos peroxidados (LPO) por grupo.

Concentración de lípidos peroxidados		
Población	[μ M]	Valor de p
Total, N=286	4.2 \pm 4.4 (0.043-31.8)	--
Hombres, N= 138	4.3 \pm 4.4 (0.050-24.9)	0.911
Mujeres, N= 148	4.0 \pm 4.3 (0.043-31.8)	
Controlados (<140/90 mm Hg), N= 197	4.1 \pm 4.0 (0.043-24.9)	0.606
No controlados (\geq 140/90 mm Hg), N= 89	4.2 \pm 5.0 (0.050-31.8)	

*Cifras de LPO comparadas por sexo y por control de la presión arterial. El valor de p indica si existen diferencias significativas entre grupos.

3.1. Lípidos peroxidados (LPO) en hombres y mujeres.

La concentración de lípidos peroxidados (μM) en plasma se reporta en la tabla 12, se distinguen entre pacientes hombres vs. mujeres, la tabla incluye estratificación por edad y presencia o ausencia de dislipidemia, diabetes, obesidad y por pacientes controlados y no controlados.

Los niveles de lípidos peroxidados son semejantes en hombres ($4.3 \pm 4.4 \mu\text{M}$) y mujeres ($4.0 \pm 4.3 \mu\text{M}$). No se observan tendencias ni diferencias significativas entre hombres y mujeres, la figura 13 muestra que las distribuciones de LPO son muy parecidas entre los sexos, la concentración más alta de lípidos peroxidados $31.8 \mu\text{M}$ pertenece a una mujer comparada con el nivel más alto en hombres que fue de $24.9 \mu\text{M}$, una diferencia importante de casi $7 \mu\text{M}$.

Tabla 12. Concentración de lípidos peroxidados (LPO, μM) estratificado por sexo, rango de edad, presión arterial (PA) y comorbilidades. Todos los valores de p fueron mayores a 0.5 por lo que no se incluyen en la tabla.

Concentración de lípidos peroxidados (μM)			
	Total N=286	Hombres N= 138	Mujeres N= 148
Población total	4.2 ± 4.4 (0.043-31.8)	4.3 ± 4.4 (0.050-24.9)	4.0 ± 4.3 (0.043-31.8)
Controlados	N= 197 4.1 ± 4.04 (0.043-24.9)	N= 92 4.6 ± 4.8 (0.10- 24.9)	N= 105 3.7 ± 3.2 (0.043-16.9)
No controlados	N= 89 4.2 ± 5.0 (0.050-31.8)	N= 46 3.7 ± 3.7 (0.050-14.9)	N= 43 4.8 ± 6.1 (0.061-31.8)
60-70 años	N= 175 4.3 ± 4.7 (0.043-31.8)	N= 81 4.6 ± 5.1 (0.10- 24.9)	N= 94 4.0 ± 4.4 (0.043-31.8)
71-80 años	N= 86 4.0 ± 4.0 (0.050-24.4)	N= 46 3.6 ± 3.2 (0.050-13.4)	N= 40 4.5 ± 4.8 (0.061-24.4)
81-95 años	N= 25 3.9 ± 3.2 (0.49-13.6)	N= 11 4.8 ± 4.2 (0.49- 13.6)	N= 14 3.2 ± 1.9 (0.89-6.9)

Sin comorbilidad	N= 35	N= 18	N= 17
	4.3 ± 3.6 (0.43-13.6)	4.7 ± 4.0 (0.43- 13.6)	3.9 ± 3.1 (0.78-11.9)
Dislipidemia	N= 138	N= 61	N= 77
	5.05 ± 5.2 (0.050-31.8)	5.06 ± 4.7 (0.050-24.6)	4.6 ± 5.1 (0.67-31.8)
Sin dislipidemia	N= 90	N= 39	N= 51
	4.6 ± 3.8 (0.43-24.9)	5.2 ± 4.5 (0.43- 24.9)	4.1 ± 3.0 (0.78-13.0)
Diabetes	N= 119	N= 56	N= 63
	4.5 ± 4.6 (0.043-31.8)	4.5 ± 4.1 (0.38- 24.9)	4.5 ± 5.0 (0.043-31.8)
Sin diabetes	N= 167	N= 82	N= 85
	3.9 ± 4.2 (0.050-24.6)	4.2 ± 4.7 (0.050-24.6)	3.7 ± 3.7 (0.050-24.4)
Obesidad	N= 99	N= 37	N= 62
	4.5 ± 4.8 (0.061-31.8)	4.3 ± 4.4 (0.39- 24.6)	4.7 ± 5.1 (0.061-31.8)
Sin obesidad	N= 187	N= 101	N= 86
	4.0 ± 4.1 (0.043-24.9)	4.3 ± 4.5 (0.050-24.9)	3.6 ± 3.6 (0.043-24.4)

* Los valores de significancia estadística no se reportan debido a que no fueron significativos en ningún caso. Los valores se reportan con la media ± la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

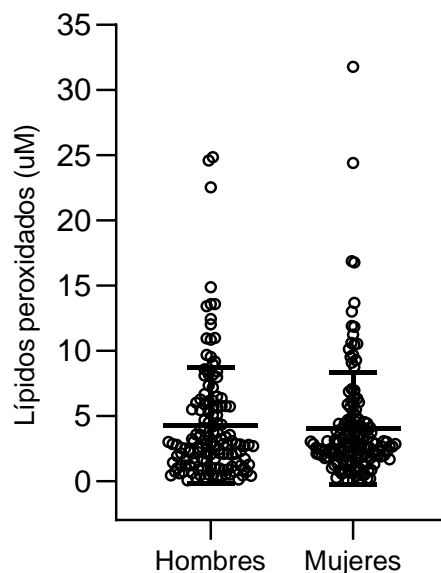


Figura 13. Concentración de lípidos peroxidados (LPO) en plasma en pacientes hombres y mujeres. *Las líneas en el interior indican a los extremos una desviación estándar y al centro la media.

3.2. Lípidos peroxidados (LPO) en pacientes con la presión arterial controlada (<140/90 mmHg) vs. no controlada (≥140/90 mmHg).

La concentración de lípidos peroxidados (μM) en plasma se reporta en la tabla 13, se distinguen entre pacientes controlados vs. no controlados, se incluye estratificación por sexo, edad y presencia o ausencia de las 3 comorbilidades más frecuentes (dislipidemia, diabetes y obesidad).

La figura 14 esquematiza el comportamiento de los valores de LPO en toda la población, puede observarse que en pacientes no controlados la concentración máxima se encuentra 6.9 puntos por encima de la correspondiente en pacientes controlados lo que concuerda con la hipótesis sobre el incremento de la oxidación de lípidos debido al estrés oxidativo aumentado en pacientes no controlados, sin embargo, las medias, desviaciones estándar y los rangos entre estos grupos son similares; controlados: $4.1 \pm 4.0 \mu\text{M}$, no controlados: $4.2 \pm 5.0 \mu\text{M}$. Las cifras más elevadas de lípidos peroxidados se encuentran en el grupo de pacientes no controlados, alrededor de la tabla se observa el mismo patrón, este comportamiento era el esperado debido a la relación entre el incremento del estrés oxidativo en condiciones de enfermedad y envejecimiento. Contrario a lo anterior, en el subgrupo de hombres, pacientes de 60-70 años, pacientes sin dislipidemia, diabéticos y obesos la concentración de lípidos peroxidados es mayor en el grupo con presión arterial controlada pero estas diferencias no son significativas.

Tabla 13. Lípidos peroxidados (LPO, μM) en la población de estudio considerando la edad, sexo y comorbilidades en pacientes controlados (<140/90 mmHg) y no controlados ($\geq 140/90$ mmHg). Todos los valores de p fueron mayores a 0.5 por lo que no se incluyen en la tabla.

Concentración de lípidos peroxidados (μM)			
Población total	Total N=286	Controlados (<140/90 mm Hg), N= 197	No controlados ($\geq 140/90$ mm Hg), N= 89
	4.2 ± 4.4 (0.043-31.8)	4.1 ± 4.0 (0.043-24.9)	4.2 ± 5.0 (0.050-31.8)
Mujeres	N= 148	N= 105	N= 43
	4.0 ± 4.3 (0.043-31.8)	3.7 ± 3.2 (0.043-16.9)	4.8 ± 6.1 (0.061-31.8)
Hombres	N= 138	N= 92	N= 46
	4.3 ± 4.4 (0.050-24.9)	4.6 ± 4.8 (0.10-24.9)	3.7 ± 3.7 (0.050-14.9)
60-70 años	N= 175	N= 121	N= 54
	4.3 ± 4.7 (0.043-31.8)	4.5 ± 4.7 (0.043-24.9)	3.7 ± 4.7 (0.19-31.8)
71-80 años	N= 86	N= 57	N= 29

	4.0 ± 4.0 (0.050-24.4)	3.5 ± 2.7 (0.19-10.9)	5.1 ± 5.6 (0.050-24.4)
81-95 años	N= 25	N= 19	N= 6
	3.9 ± 3.2 (0.49-13.6)	3.8 ± 2.6 (0.89-12.01)	4.3 ± 4.8 (0.49-13.6)
Diabetes	N= 119	N=80	N= 39
	4.5 ± 4.6 (0.043-31.8)	4.6 ± 4.0 (0.043-24.9)	4.3 ± 5.6 (0.38-31.8)
Sin diabetes	N= 167	N= 117	N= 50
	3.9 ± 4.2 (0.050-24.6)	3.8 ± 4.07 (0.050-24.6)	4.2 ± 4.6 (0.050-24.4)
Dislipidemia	N= 138	N=98	N= 40
	4.8 ± 4.9 (0.050-31.8)	4.7 ± 4.2 (0.67-24.6)	5.2 ± 6.4 (0.050-31.8)
Sin dislipidemia	N= 90	N= 67	N= 23
	4.6 ± 3.8 (0.43-24.9)	4.7 ± 4.1 (0.43-24.9)	4.2 ± 2.6 (0.49-11.2)
Obesidad	N= 99	N= 67	N= 32
	4.5 ± 4.8 (0.061-31.8)	4.6 ± 4.2 (0.38-24.6)	4.3 ± 6.1 (0.061-31.8)
Sin obesidad	N= 187	N= 130	N= 57
	4.0 ± 4.1 (0.043-24.9)	3.9 ± 4.0 (0.043-24.9)	4.2 ± 4.4 (0.050-24.4)

* Los valores de significancia no se reportan debido a que no fueron significativos en ningún caso. Los valores se reportan con la media ± la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

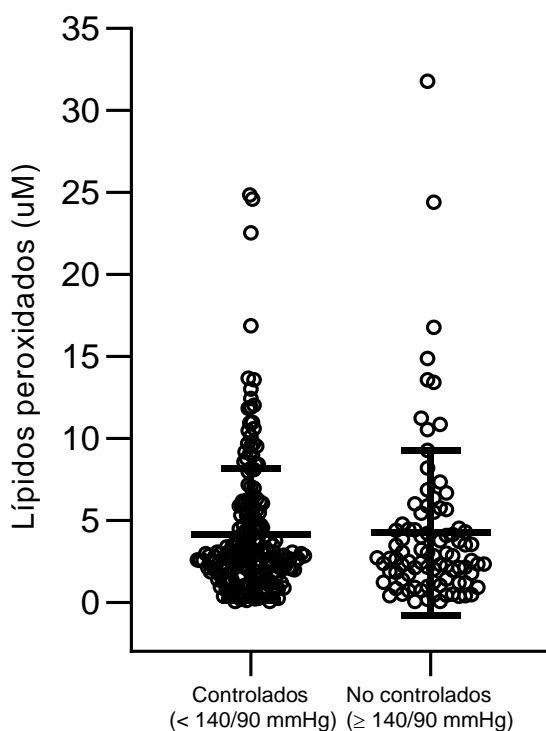


Figura 14. Concentración de lípidos peroxidados (LPO) en plasma en pacientes controlados y no controlados. *Las líneas en el interior indican a los extremos una desviación estándar y al centro la media.

3.3. Lípidos peroxidados (LPO) según tratamiento antihipertensivo.

En cuanto al tratamiento con antihipertensivos no se encontraron diferencias significativas. Posteriormente, además del tratamiento se incluye la comparación de LPO por sexo, tampoco se obtuvieron diferencias de acuerdo con el tratamiento, por último, se contrastaron los niveles de LPO por tratamiento en pacientes controlados vs. no controlados a pesar de que no se distinguieron diferencias sí se observó que la concentración de LPO en pacientes bajo tratamiento con ARA II fue mayor en los no controlados en comparación con los controlados, esto debido en parte al incremento de AGL disponibles en el plasma de estos pacientes.

4. Modelos de asociación entre presión arterial y niveles de AGL y LPO.

Con el propósito de identificar posibles asociaciones entre la presión arterial y su relación con los ácidos grasos libres y lípidos peroxidados, se desarrollaron modelos lineales de asociación en los cuales la variable de respuesta fueron la PAS o la PAD y como variables independientes o covariantes los niveles de lípidos de pruebas bioquímicas, parámetros clínicos y antropométricos de acuerdo con la selección de covariantes no colineales o no correlacionados (siguiente sección).

4.1. Covariables del modelo de asociación.

Las covariantes que componen estos modelos incluyen parámetros clínicos no relacionados entre sí, lo cual se determinó a partir del coeficiente de correlación entre ellos $R > |0.499|$. Es decir, si para dos variantes clínicas se observa un coeficiente de correlación entre ellas de $R > |0.499|$ y $p < 0.05$ solo una de estas se incluye en el modelo.

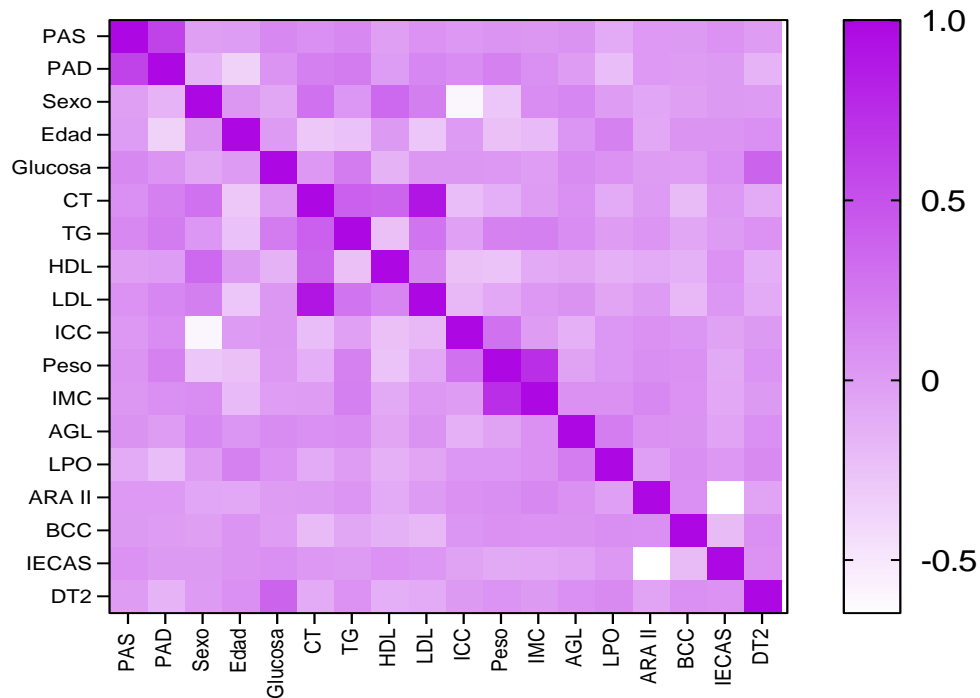


Figura 15. Correlación entre variables clínicas en la población de estudio. PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica, CT: colesterol total, TG: triglicéridos, HDL: colesterol HDL, LDL: colesterol LDL, ICC: índice cintura-cadera, IMC: índice de masa corporal, AGL: ácidos grasos libres, LPO: lípidos peroxidados, ARA II: antagonistas de los receptores de angiotensina II, BCC: bloqueadores de canales de calcio y DT2: diabetes mellitus tipo 2. Correlación de Spearman.

La figura 15 muestra los valores correspondientes a la correlación de Spearman (r) y la tabla 14 contiene los valores de r y de p obtenidos para las variables colineales de las cuales se descarta una de cada par que presenta correlación significativa.

Tabla 14. Variables colineales obtenidas de la correlación.

Variables colineales	Spearman r	Valor de p
PAS y PAD	0.604	7.2e-036
Sexo e ICC	-0.583	5.4e-033
CT y c-LDL	0.905	2.1e-086
Peso e IMC	0.735	5.06e-060
ARA II e IECAS	-0.648	1.2e-042

También se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para elegir cuál variable de entre las correlacionadas formaría parte del modelo. De esta manera se confirmó la selección de covariantes con “score” más alto i.e \geq al 70% de la variación total de acuerdo

con la proporción acumulada de cada componente. A partir de estos análisis se incluyeron las siguientes covariantes en los modelos de regresión:

- Sexo
- Colesterol total (CT)
- IMC
- ARA II
- Triglicéridos (TG)
- Diabetes tipo 2 (DT2)
- Edad
- Ácidos grasos libres (AGL)
- Lípidos peroxidados (LPO)
- Bloqueadores de canales de calcio (BCC)

Con estos parámetros se desarrollaron los modelos lineales generalizados para PAS y PAD y uno logístico definiendo a pacientes controlados o no controlados como la variable dependiente. Para la selección del mejor modelo se aplicó el criterio de información Akaike (AIC) seleccionando aquel con la mejor bondad de ajuste.

4.2. Modelos de asociación entre ácidos grasos libres (AGL), lípidos peroxidados (LPO) y la presión arterial (PAS o PAD).

Modelo 1. Variable dependiente Y= PAS (N=344)

$$\text{PAS} = \beta_0 - 3.118 \text{ Sexo} + 2.0817 \text{ BCC} + 1.376 \text{ ARA II} + 0.232 \text{ Edad} - 0.132 \text{ Lípidos peroxidados} + 0.0714 \text{ Colesterol total} + 0.0308 \text{ Triglicéridos} + 0.00480 \text{ AGL}$$

El ajuste a un modelo lineal en el que la PAS fue definida como la variable dependiente genera el modelo anterior, se observa que el sexo (masculino: 1, femenino: 2) es inversamente proporcional a la PAS y en mujeres el nivel de PAS disminuye dos veces en comparación con los hombres. La concentración de LPO tiene un efecto inverso sobre la PAS, lo cual se traduce en que por cada unidad de LPO la PAS disminuye 0.132 mmHg. En contraparte, el tratamiento con BCC, con ARA II, la edad, los niveles de colesterol total, triglicéridos y ácidos grasos libres muestran asociación directa con la PAS; por cada unidad de estas covariantes la PAS incrementa en 2.0817, 1.376, 0.232, 0.0714, 0.0308 y 0.00480 mmHg respectivamente. Sin embargo, de acuerdo con el valor de p ningún parámetro clínico estuvo significativamente asociado a la PAS incluyendo los niveles de LPO y AGL (Tabla 15). Cabe mencionar que la concentración de colesterol total mostró una tendencia

a la significancia con valor de $p=0.0569$, esto revela el efecto de los niveles de colesterol sobre la PAS y la importancia de incluir este parámetro en modelos futuros.

Tabla 15. Parámetros del modelo lineal generalizado PAS.

Parámetro	Tamaño del efecto (Beta)	Valor de p
β_0	99.39	11.5e-09
Tamaño del efecto de covariantes		
Sexo (1: masculino, 2: femenino)	-3.118	0.185
Tratamiento con BCC	2.0817	0.421
Tratamiento con ARA II	1.376	0.539
Edad	0.232	0.192
Lípidos peroxidados	-0.132	0.616
Colesterol Total	0.0714	0.0569
Triglicéridos	0.0308	0.181
Ácidos grasos libres	0.00480	0.328

Modelo 2. Variable dependiente PAD (N=344)

$$PAD = \beta_0 - 4.469 \text{ Sexo} - 2.610 \text{ DT2} + 1.791 \text{ BCC} - 0.359 \text{ Edad} - 0.243 \text{ Lípidos peroxidados} + 0.0665 \text{ Colesterol total} + 0.0205 \text{ Triglicéridos} + 0.00313 \text{ AGL}$$

El ajuste a un modelo lineal en el que la PAD fue definida como la variable dependiente genera el modelo anterior, se observa que el sexo (masculino: 1, femenino: 2) es inversamente proporcional a la PAD y en mujeres el nivel de PAS disminuye dos veces en comparación con los hombres, la diabetes, la edad y el nivel de lípidos peroxidados también tienen una asociación inversa con la PAD, es decir, por cada unidad de las covariantes antes mencionadas la PAD disminuye 4.469, 2.610, 0.359 y 0.243 mm Hg respectivamente. Por otra parte, el tratamiento con BCC, los niveles de colesterol total, triglicéridos y AGL tienen una asociación directa con los niveles de PAD, por lo que por cada unidad de estos parámetros la PAD aumenta 1.791, 0.0665, 0.0205 y 0.00313 mm Hg respectivamente. De acuerdo con los valores de significancia estadística, la edad ($p=0.000147$), el sexo

(0.000354), los niveles de colesterol total ($p=0.000928$) y la diabetes ($p=0.0308$) fueron las covariantes significativamente asociadas a la PAD (Tabla 16).

Tabla 16. Parámetros del modelo lineal generalizado PAD.

Parámetro	Tamaño del efecto (Beta)	Valor de p
β_0	90.32	<2e-16
Tamaño del efecto de covariantes		
Sexo (1: masculino, 2: femenino)	-4.469	0.000354
Diabetes T2	-2.610	0.0308
Tratamiento con BCC	1.791	0.190
Edad	-0.359	0.000147
Lípidos peroxidados	-0.243	0.0799
Colesterol Total	0.0665	0.000928
Triglicéridos	0.0205	0.0951
Ácidos grasos libres	0.00313	0.227

Este modelo muestra la relevancia clínica de variables como la edad, sexo, niveles de colesterol total y la presencia de diabetes en el paciente que ayudan a describir el comportamiento de la presión arterial.

4.3. Modelo logístico, presión arterial controlada (Si=0, <140/90 mmHg) versus no controlada (No=1; $\geq 140/90$ mmHg) como variable dicotómica

Con el objetivo de encontrar la relación entre los niveles de LPO y AGL sobre el control o descontrol de la presión arterial, se obtuvo un modelo con variables de respuesta dicotómicas, donde “0” representa la presión controlada y “1” no controlada.

Modelo 3. Control y falta de control en la presión arterial, modelo logístico (N=344)

$$\text{PA controlada "0" no controlada "1" =}$$

$$\beta_0 - 0.483 \text{ Sexo} + 0.351 \text{ BCC} + 0.199 \text{ ARA II} + 0.0176 \text{ Edad} - 0.00960 \text{ Lípidos peroxidados} - 0.00878 \text{ IMC} + 0.00754 \text{ CT} + 0.00222 \text{ TG} + 0.000452 \text{ AGL}$$

Se observa que el control de la presión arterial es más probable en mujeres, la concentración de LPO, el IMC y el sexo se asocian indirectamente con el control de la

presión arterial, es decir, por cada unidad de estas covariantes el control de la presión arterial es más probable en un factor de 0.00960, 0.00878 y 0.483 respectivamente. Por otro lado, el tratamiento con BCC, ARA II, edad, concentración de colesterol total, triglicéridos y niveles de ácidos grasos libres se asocian directamente con el control de la presión arterial, por lo tanto, por cada unidad de los parámetros clínicos antes mencionados el control de la presión arterial es menos probable en un factor de 0.351, 0.199, 0.0176, 0.00754, 0.00222 y 0.000452 respectivamente. De acuerdo con los valores de significancia estadística el sexo ($p=0.0556$) y los niveles de colesterol total ($p=0.0629$) muestran una tendencia a la significancia, mismos parámetros que se vieron significativos en el modelo de PAD a pesar de esto ningún parámetro logró ser estadísticamente significativo (Tabla 17).

Tabla 17. Parámetros del modelo logístico presión controlada y no controlada.

Parámetro	Tamaño del efecto (Beta)	Valor de p
β_0	-3.102	0.0841
Tamaño del efecto de covariantes		
Sexo (1: masculino, 2: femenino)	-0.483	0.0556
Tratamiento con BCC	0.351	0.2017
Tratamiento con ARAII	0.199	0.4101
Edad	0.0176	0.3507
Lípidos peroxidados	-0.00960	0.7368
IMC	-0.00878	0.5966
Colesterol total	0.00754	0.0629
Triglicéridos	0.00222	0.3623
Ácidos grasos libres	0.000452	0.3789

4.4. Comparación entre valores reales de presión arterial (PA) y valores generados por los modelos.

Comparación entre valores reales de PAS y los generados por el modelo lineal.

Se evaluó la capacidad predictiva del modelo lineal para los valores de presión arterial por cada paciente, los resultados se compararon posteriormente con los valores reportados por el médico. Las cifras obtenidas por el modelo se compararon con los valores reales a través de un análisis de correlación y determinando diferencias estadísticas mediante la prueba de Wilcoxon por pares (Suma de rangos, $W=3458$ y valor de $p=0.3491$). El valor de significancia para el modelo PAS indica que no existe una diferencia significativa entre los valores esperados y los observados (Tabla 18, anexo: tabla A8). En cambio, al graficar los valores esperados y observados la ecuación de la recta tuvo una $R^2=0.0137$ lo que indica que el modelo sólo predice el 1.37% de la variabilidad por lo que no es muy fidedigno (Figura 16).

Tabla 18. Niveles de PAS esperados y observados en una submuestra de 20 pacientes.

No. de paciente	PAS esperada	PAS observada
1	137	132.0
2	176	131.3
3	130	128.9
4	128	134.3
5	125	139.2
6	139	132.3
7	164	134.2
8	150	130.6
9	104	133.2
10	151	137.7
11	149	134.4
12	179	134.5
13	139	130.5
14	102	128.2
15	131	126.7
16	133	132.2
17	124	134.7
18	98	130.4
19	124	124.9
20	125	129.4

*Prueba de Wilcoxon por pares
Valor de $p=0.3491$
 $W=3458$
R de Spearman= 0.2158 con valor de $p<0.0001$

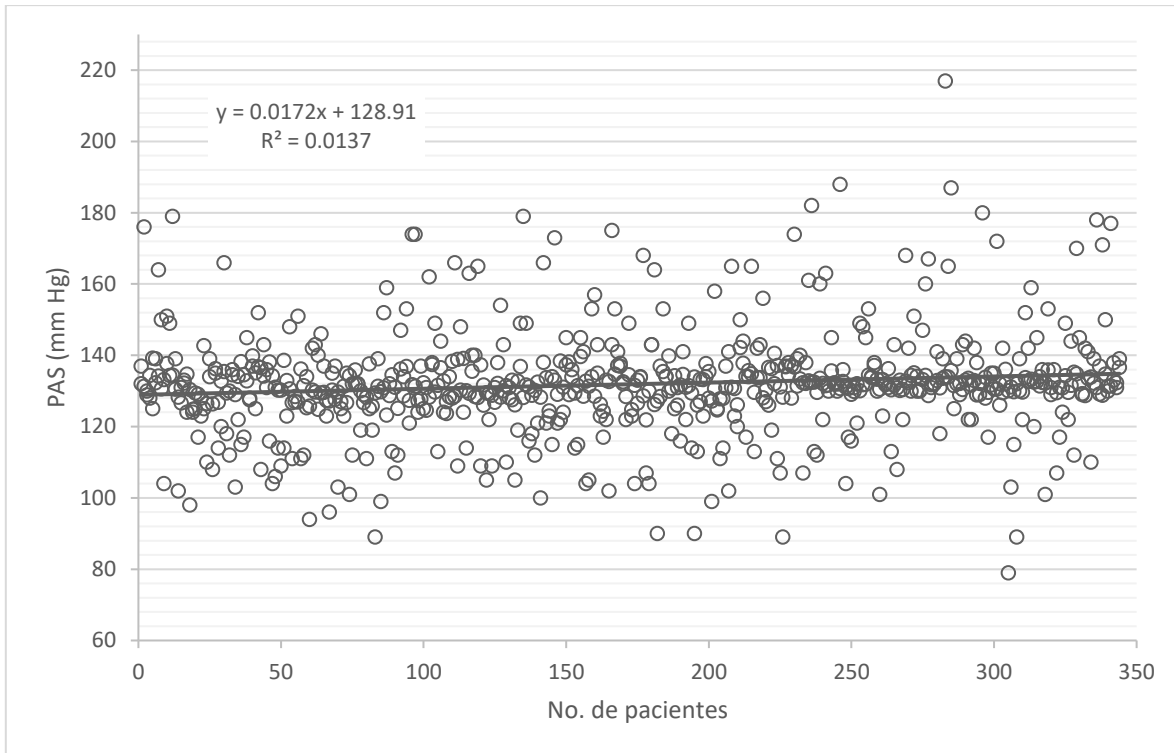


Figura 16. Valores de PAS esperados y observados en la población de estudio. El gráfico muestra los datos esperados y los observados de acuerdo con el modelo PAS.

Comparación entre valores reales de PAD y los generados por el modelo lineal.

Se evaluó la capacidad predictiva del modelo lineal para los valores de presión arterial por cada paciente, los resultados se compararon posteriormente con los valores reportados por el médico. Los valores generados por el modelo se comparan con los valores reales a través de un análisis de correlación y determinando diferencias estadísticas mediante la prueba de Wilcoxon por pares ($W=1714$, valor de $p=0.6426$). El valor de significancia para el modelo PAD indica que no existe una diferencia significativa entre los valores esperados y los observados (Tabla 19, anexo: tabla A9). Sin embargo, al graficar los valores esperados y observados la ecuación de la recta tuvo una $R^2=0.096$ lo que indica que el modelo sólo predice el 9.6% de la variabilidad por lo que no es muy confiable (Figura 17).

Tabla 19. Niveles de PAD esperados y observados en una submuestra de 20 pacientes.

No. de paciente	PAD esperada	PAD observada
1	88	76.4
2	90	74.5
3	67	72.7
4	67	74.0
5	85	83.3
6	78	73.7
7	93	80.4
8	98	69.9
9	59	71.6
10	81	79.1
11	83	73.5
12	92	77.6
13	69	74.4
14	66	73.4
15	66	72.6
16	72	66.7
17	64	70.2
18	54	73.0
19	60	66.1
20	64	75.7
<p>*Test de Wilcoxon por pares Valor de $p= 0.6426$ $W=1714$ R de Spearman= 0.4615 con valor de $p<0.0001$</p>		

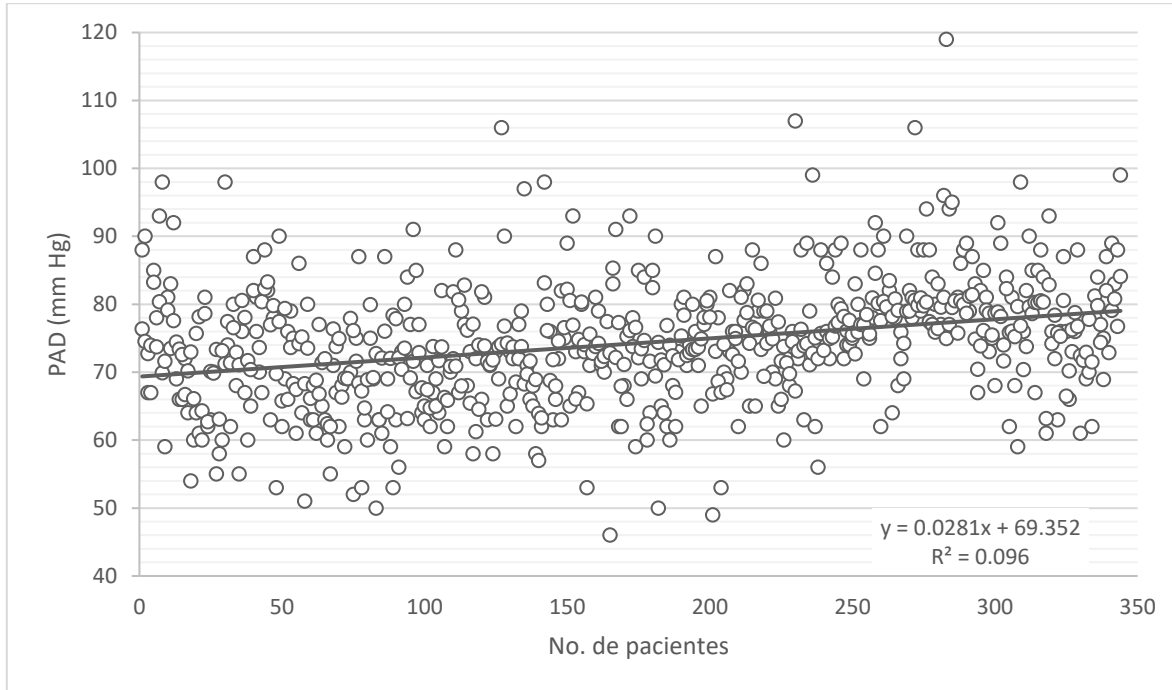


Figura 17. Valores de PAD en la población de estudio. El gráfico muestra los datos esperados y los observados de acuerdo con el modelo PAD.

DISCUSIÓN

La hipertensión arterial es un padecimiento multifactorial lo cual complica su etiología, detección, selección del tratamiento y pronóstico, de ahí la importancia de hallar nuevos biomarcadores que describan mejor este padecimiento y el estado en cual se encuentra el paciente con el fin de tener un diagnóstico y tratamiento más certeros. En el presente estudio se investigó la relación entre la concentración de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en plasma con los niveles de presión arterial en adultos mayores diagnosticados con hipertensión que se encuentran bajo tratamiento con antihipertensivos. Es relevante mencionar que individuos de este estudio han sido contemplados para la identificación de variantes genéticas y firmas de microbioma, de esta forma se espera que al finalizar se tenga un perfil bioquímico y genómico completo que pueda ser el soporte para la descripción de esta población y mejor entendimiento de la hipertensión.

1. La población de estudio presenta individuos con presión arterial no controlada y comorbilidades.

Investigamos a 344 adultos mayores hipertensos bajo tratamiento antihipertensivo. La mayoría presentó presiones arteriales controladas (<140/90 mmHg, 67.2%) en comparación con una minoría de no controlados (\geq 140/90 mmHg, 32.8%). Cabe resaltar que solo 35 (10.2%) pacientes padecen únicamente hipertensión y que los 309 restantes (89.8%) además de hipertensión tienen alguna otra enfermedad (principalmente dislipidemia, diabetes y obesidad). Esta información se ajusta a lo reportado por la ENSANUT 2016 lo cual indica que la submuestra de adultos mayores estudiada es un reflejo del comportamiento poblacional a nivel nacional.

2. La media de la concentración de ácidos grasos libres (AGL) en la población estudiada se encuentra en el rango reportado por otros estudios.

En el presente estudio se determinó la concentración de ácidos grasos libres de 344 pacientes. Se observó un promedio de ácidos grasos de $383 \pm 228.9 \mu\text{M}$ (5.5-1454 μM), lo cual coincide con niveles reportados en varios estudios y por los fabricantes de ensayos enzimáticos, estos niveles pueden variar entre 150-450 μM y hasta 910 μM en individuos con hipertensión y otras comorbilidades como resistencia a la insulina y microangiopatía^{24,22}. Por lo tanto, este estudio extiende y confirma reportes previos sobre niveles de ácidos grasos libres en una población de relevancia clínica y demográfica no solo en nuestro país sino a nivel mundial.

2.1. Los niveles de ácidos grasos libres (AGL) en hombres y mujeres son significativamente distintos.

Entre los resultados más relevantes se encontraron diferencias significativas en los niveles de ácidos grasos libres entre hombres y mujeres, la concentración fue mayor en mujeres, este comportamiento puede en parte atribuirse a que los niveles de triglicéridos, colesterol total, LDL-c y HDL-c siempre son más altos en la población femenina (Tabla 5). Podemos hipotetizar que niveles elevados de diferentes familias de lípidos, en mayor medida triglicéridos y fosfolípidos, podrían contribuir a que estén más disponibles a ser detectados como ácidos grasos libres en plasma de los cuales gran parte sufrirá una posterior oxidación a lípidos peroxidados sobre todo si se trata de ácidos grasos poliinsaturados, un efecto observado en mayor medida en mujeres (Tabla 12). Es decir, es posible que como la

actividad de la lipoproteína lipasa (LPL) es mayor en mujeres que en hombres, esta esté relaciona con una mejor actividad de la lipólisis en respuesta a estímulos lipolíticos de ayuno, pero también a la mejor supresión de esta enzima por la insulina principalmente⁴⁸. Al haber un aumento de la actividad lipolítica se espera que la concentración de ácidos grasos libres sea mayor en la circulación sanguínea en mujeres más que en hombres. En apoyo a estas diferencias, Palmisano B.T. et al., (2018) describen que las discrepancias de lípidos entre los sexos pueden deberse a variaciones en la distribución de la adiposidad y la capacidad de almacenamiento de TG que afectan el flujo de ácidos grasos que se producen durante el ayuno y la alimentación. En estados de obesidad, hombres y mujeres liberan mayor cantidad de ácidos grasos a la sangre, pero ende son mayores en mujeres que en hombres con obesidad, aunque en ellas, con menos impacto sobre la resistencia a la insulina⁴⁸.

En el presente estudio se observaron niveles de ácidos grasos en las mujeres 16.8% más altos que en hombres ($p=0.0075$) lo cual concuerda con reportes acerca del dimorfismo sexual en el metabolismo de lípidos. Además, en mujeres la menopausia aumenta los niveles de diversos lípidos en plasma como HDL, VLDL, triglicéridos, colesterol e incluso propicia el origen de las dislipidemias⁴⁸, así la edad y dimorfismo en la actividad de la enzima lipoproteína lipasa explican en parte estas diferencias.

2.2. La concentración de ácidos grasos libres (AGL) en pacientes controlados es menor en comparación con los no controlados.

Una observación importante suscitó al comparar el nivel máximo de ácidos grasos libres entre pacientes controlados versus no controlados, resultó 110 puntos mayor en los segundos. Sin embargo, el rango de los datos en ambos grupos es muy similar y únicamente un valor sobresale en comparación sobre la concentración de ácidos grasos libres. El dato que sobresale pertenece a un paciente que presentó una concentración de lípidos peroxidados de $2.9\mu\text{M}$, la cual está 1.3 unidades por debajo del promedio poblacional revelando que la oxidación de lípidos causada por estrés oxidativo no es muy alta en este paciente a pesar de que se trata de un hombre con diabetes y dislipidemia además de hipertensión, cabe resaltar que se trata de un paciente controlado con antihipertensivos aun así su presión arterial es de 137/87 mmHg y su nivel de $\text{AGL}=1454.0\mu\text{M}$.

Al contrastar la media de ácidos grasos libres entre pacientes controlados y no controlados vemos que concuerda con la hipótesis principal ya que la concentración de ácidos grasos libres en pacientes sin control fue mayor por 21.9 unidades ($397.7 \pm 231.8 \mu\text{M}$) comparadas con la media en pacientes bajo control ($375.8 \pm 227.6 \mu\text{M}$) aunque las diferencias no fueron significativas ($p=0.365$) existe una tendencia lógica que habrá que confirmar ampliando el presente estudio. Cabe destacar que 59 de los pacientes controlados están bajo tratamiento con estatinas lo cual contribuye a la disminución de lípidos en la circulación sanguínea y pudiera enmascarar las diferencias en AGL por un control en los niveles de colesterol que acarrearán ácidos grasos esterificados. Lo anterior se sugiere ya que las estatinas disminuyen los niveles de colesterol al inhibir la HMG-CoA reductasa, enzima clave en su síntesis y por ende el transporte de ácidos grasos esterificados. Las estatinas alteran la concentración de ácidos grasos unidos a triglicéridos (45%), fosfolípidos (35%), ésteres de colesterol (15%) y en menor proporción ácidos grasos libres (5%)^{52,53}. También, las estatinas aumentan la actividad de la lecitina: colesterol aciltransferasa, que sintetiza los ésteres de colesterol a partir del colesterol y los ácidos grasos⁵² contribuyendo así a la reducción indirecta de ácidos grasos libres. Algunos estudios apoyan la premisa de que las estatinas se asocian con una reducción significativa de concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres. Por ejemplo, la acetil CoA carboxilasa y la sintasa de ácidos grasos, dos de las enzimas regulatorias en la biosíntesis de ácidos grasos podrían estar reguladas simultáneamente por la HMG-CoA reductasa a nivel genómico⁵³. Las estatinas activan al receptor α del proliferador de peroxisoma (PPAR α) aumentando la captura de ácidos grasos por el hígado y promoviendo la transformación de ácidos grasos a acil-CoA, lo que resulta en un incremento de la β -oxidación y reducción de la disponibilidad de ácidos grasos⁵³. Con base en lo anterior, las estatinas pueden alterar la biogénesis de los ácidos grasos independientemente del mecanismo que regula la síntesis y secreción de lipoproteínas⁵³. Sin embargo, los datos disponibles sobre los efectos de las estatinas en las concentraciones plasmáticas de ácidos grasos libres aún son limitados, por ejemplo, en un estudio se cuantificó la cantidad de ácidos grasos libres en plasma de 6 hombres con hipercolesterolemia medicados con rosuvastatina o con placebo por 4 semanas, se observó una disminución en la cantidad de ácidos grasos libres en aquellos medicados con rosuvastatina⁶³. Algunas investigaciones se basan en estudios a pequeña escala por lo que es importante que se continúe con la exploración del papel que juegan los ácidos grasos libres.

2.3. Los niveles de ácidos grasos libres (AGL) se modifican por el tratamiento antihipertensivo.

En pacientes bajo tratamiento con ARAll se observaron mayores niveles de ácidos grasos libres en mujeres, la concentración promedio fue 59.4 unidades mayor a la de los hombres lo cual puede deberse a las diferencias en el metabolismo lipídico por sexo ($p=0.0287$), es decir, el dimorfismo que se observó entre sexos tuvo significancia estadística entre pacientes bajo tratamiento con ARAll además se ha documentado que esta clase farmacéutica influye sobre los niveles de ácidos grasos libres, posteriormente se ejemplifica este supuesto.

Al comparar los niveles de ácidos grasos libres de pacientes en tratamiento con ARA II entre controlados vs. no controlados no se encontraron diferencias significativas, por lo que esta clase fármacos tendría un efecto en mujeres independiente a niveles de presión arterial es decir al control de la hipertensión. Sin embargo, algunos estudios han asociado a los ARAll como telmisartán y losartán con la disminución de ácidos grasos libres. En ratones tratados con telmisartán se observa una concentración menor de ácidos grasos libres ($0.55\mu\text{M}$) al comparar con ratones sin tratamiento ($0.79\mu\text{M}$)⁵⁴. Por otra parte, los fármacos de las clases terapéuticas BCC y IECAS parecen no tener un efecto sobre los niveles lipídicos pues no observamos diferencias entre estos grupos de pacientes, lo cual coincide con lo reportado por otros estudios^{55,56}.

3. Los niveles de lípidos peroxidados (LPO) en la población de estudio coinciden con los de estudios anteriores.

Con respecto a los lípidos peroxidados los niveles caracterizados en este estudio concuerdan con los de la literatura ($4.2\pm 4.4\mu\text{M}$)^{43,51} incluyendo estudios realizados en México bajo la misma metodología de determinación de TBARS (MDA). Por ejemplo, en pacientes mexicanos de ~50 años con esclerosis cutánea los niveles de MDA como indicador de lípidos peroxidados alcanzaron niveles entre $9-26.2\mu\text{M}$ ⁵⁷, en nuestro estudio se hallaron niveles de hasta $31.8\mu\text{M}$ únicamente 5.6 puntos por encima de lo que los investigadores reportan. En otro estudio de 202 adultos mayores mexicanos pertenecientes a la misma cohorte COSFAMM pero de una submuestra diferente se obtuvieron niveles de lípidos peroxidados de $33.5\pm 13.2\mu\text{M}$ ³⁹, lo anterior coincide con lo determinado en esta población de estudio ($31.8\mu\text{M}$) indicando que estos niveles podrían ser tomados como

referencia en población de adultos mayores de la zona metropolitana de la Ciudad de México.

3.1. La concentración de lípidos peroxidados (LPO) no cambia significativamente en hombres y mujeres.

Los lípidos peroxidados no mostraron diferencias entre sexos o grupos de edad, por lo tanto, los niveles de LPO podrían ser independientes del sexo, edad y posiblemente estar relacionados con la dieta, la capacidad antioxidante intrínseca de cada individuo, el medio ambiente, la genética o los estados de enfermedad como la hipertensión que merman la capacidad antioxidante del cuerpo³⁹. Si bien esta hipótesis es muy general, existen estudios observacionales que reportan una relación inversa entre los antioxidantes plasmáticos y la presión arterial, y estudios clínicos han demostrado que las presiones arteriales sistólica y diastólica se correlacionan positivamente con los biomarcadores de estrés oxidativo (TBARS en plasma y 8-epi-isoprostanos) y negativamente con los niveles de antioxidantes en los pacientes con hipertensión⁵⁸. Es importante señalar que las mujeres de este estudio sobrepasan la edad de la menopausia por al menos una década, entonces las hormonas sexuales han disminuido ocasionando una mayor producción de EROs, angiotensina II y una disminución en la capacidad antioxidante⁵⁸ lo cual ya se sabe incide directamente en un incremento de enfermedades cardiovasculares⁵⁹ y en este caso podría explicar en parte el aumento en los niveles de LPO.

3.2. Los niveles de lípidos peroxidados (LPO) en pacientes controlados y no controlados no presenta diferencias significativas.

En pacientes con la presión arterial no controlada los niveles de lípidos peroxidados fueron 0.1-1.6 μ M (5%) mayores a los niveles obtenidos en pacientes controlados y la concentración más alta de 31.8 μ M se encontró también en el grupo de pacientes sin control, pero ninguna de estas diferencias fue significativa.

4. Los modelos de asociación entre PAS/PAD- Ácidos grasos libres y lípidos peroxidados no muestran una relación significativa.

La asociación entre PAS/PAD y parámetros clínicos como ácidos grasos libres, lípidos peroxidados, sexo, colesterol, triglicéridos y tratamiento farmacológico antihipertensivo no mostró una relación estadísticamente significativa. Se observa una tendencia entre la PAS y los niveles de colesterol ($p=0.0569$), esta relación ya se ha documentado, i.e. En una

investigación realizada en China evaluaron la relación entre la rigidez arterial, los niveles de colesterol y la presión arterial sistólica en 2045 participantes, sus resultados mostraron que la PAS aumentaba en 0.27 mmHg por cada aumento de 1 unidad de colesterol total. Encontraron que la mitad de las elevaciones de PAS inducidas por colesterol total estaban mediadas por rigidez arterial⁶⁰.

Parámetros como el sexo, la edad apenas muestran una tendencia de asociación con la PAS ($p > 0.190$) estos factores clínicos también ya han sido reportados como relevantes para la presión arterial, la falta de asociación aquí observada puede deberse a varias causas entre ellas la complejidad de la población en cuanto a comorbilidades, edad y tratamientos farmacológicos, a diferencias hormonales debidas a la edad y al dimorfismo sexual, también al tamaño de la población, es muy posible que debido a su complejidad el estudio de adultos mayores deba realizarse en poblaciones de tamaños significativamente más grandes.

Resulta interesante las diferencias en cuanto a relevancia estadística entre la PAS y la PAD. Cuando se analiza la PAD vemos que parámetros como el sexo, edad, DT2 y el colesterol son estadísticamente relevantes para la presión arterial diastólica. Los LPO muestran una tendencia hacia la asociación significativa ($P = 0.0799$) pero no así los AGL.

En ambos modelos, PAD y PAS se observa que el impacto o tamaño del efecto de los niveles de LPO ocupa el quinto lugar de los ocho parámetros clínicos considerados para el desarrollo de modelos (Tablas 16-17) y la concentración de AGL ocupa el último (Tabla 16-17), es decir, los parámetros de LPO y AGL parecen no tener una relevancia en los niveles de PAS o PAD. Es preciso mencionar que la capacidad de predicción de los modelos fue muy baja, 1.37% para PAS y 9.6% para PAD, esto puede deberse a que en el caso del primero ninguna covariante fue estadísticamente significativa y para el caso de PAD sólo tres covariantes lo fueron. El objetivo del estudio fue encontrar una asociación entre AGL y LPO con los niveles de presión arterial por lo tanto estos parámetros se introdujeron en los modelos, sin embargo, para futuras investigaciones podría acrecentarse el número de individuos del estudio, o bien, realizar la determinación modelos que incluyan estos parámetros bioquímicos por separado con la finalidad de encontrar un efecto significativo sobre los niveles de presión arterial y el control de esta.

Como mencionamos anteriormente la poca asociación estadística de los lípidos peroxidados y ácidos grasos libres con la presión arterial PAS o PAD es multifactorial y hay que considerar que este estudio es parte de uno más amplio que aún se encuentra en

desarrollo y que investigaciones paralelas están buscando identificar variantes genéticas, así como firmas en el microbioma intestinal y su posible relación con la presión arterial. Conforme avance la generación de resultados genómicos y de microbioma será posible tal vez, una caracterización de la población más comprehensiva que permita la consideración de más parámetros para identificar aquellos relevantes para la PAS y la PAD.

Por otro lado, conforme la tecnología sea más accesible será posible determinar molecularmente a los ácidos grasos libres y lípidos peroxidados con precisión, es decir es importante saber el tamaño de la cadena de un lípido, así como el número y posición de dobles enlaces para identificar rutas bioquímicas y poder definirlos como de protección o deletéreos para la salud humana. Se espera que en instrumentos tal vez basados espectrometría de masas y separación de lípidos por grupo funcional, el tamaño de la cadena lipídica y número de insaturaciones provean de un panorama más claro sobre el papel de los ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en la hipertensión ^{4,23,25,26,40,61}.

Aquí fue posible caracterizar en términos de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados a una población de 344 adultos mayores hipertensos, los valores obtenidos concuerdan con otros estudios lo cual facilitará la definición de valores promedio o de referencia de estos lípidos, información de importancia clínica en nuestro país con una población de alta incidencia en cuanto a hipertensión y en dirección hacia el envejecimiento.

CONCLUSIONES

En este estudio se caracterizaron los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en 344 adultos mayores hipertensos. Individuos con la presión arterial bajo control <140/90 mmHg mostraron 5.5% menor concentración de ácidos grasos libres que pacientes hipertensos con la presión no controlada $\geq 140/90$ mmHg, pero las diferencias no fueron significativas. Pacientes fuera del límite que marca la guía de práctica clínica del IMSS presentan una concentración mayor en plasma de ácidos grasos libres lo cual posiblemente refleja el incremento o desregulación de la lipólisis y un estado inflamatorio⁶².

Los niveles más altos de ácidos grasos libres en mujeres pueden en parte explicarse por los cambios que genera la menopausia en la salud cardiovascular de la mujer aunado al dimorfismo sexual de ciertas enzimas como la lipoproteína lipasa cuya actividad es mayor en mujeres.

En cuanto a los niveles de lípidos peroxidados éstos fueron 2.4% menores en pacientes que mantienen su presión arterial bajo control comparados con aquellos no controlados, sin embargo, las diferencias no fueron significativas. Estos resultados muestran que en la población estudiada los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados están elevados en pacientes con hipertensión no controlada. Cabe señalar que la población de estudio está bajo tratamiento farmacológico y que la descripción de las interacciones farmacológicas con los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados estuvieron fuera del alcance de esta investigación. En un futuro será importante confirmar estos resultados en otras poblaciones o ampliando el presente grupo de estudio e incluyendo un grupo control, con el fin de validar los intervalos de concentración de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados, así como, las diferencias entre grupos i.e. hipertensos controlados versus no controlados; hombres y mujeres incluyendo posibles diferencias según el fármaco antihipertensivo.

REFERENCIAS

1. Alba Leonel, A. Patrones de uso de fármacos antihipertensivos en la Ciudad de México. (UNAM, 2016).
2. Campos-Nonato, I. *et al.* [Hypertension: prevalence, early diagnosis, control and trends in Mexican adults]. *Salud Publica Mex.* **55 Suppl 2**, S144-50 (2013).
3. Floyd, C. N. Hypertension - State of the art 2015. *Clin. Med. J. R. Coll. Physicians London* **16**, 52–54 (2016).
4. Zhong, S. *et al.* An update on lipid oxidation and inflammation in cardiovascular diseases. *Free Radic. Biol. Med.* **144**, 266–278 (2019).
5. Huan, T. *et al.* A Meta-analysis of Gene Expression Signatures of Blood Pressure and Hypertension. *PLoS Genet.* **11**, 1–30 (2015).
6. Cheung, B. M. Y. & Li, C. Diabetes and hypertension: Is there a common metabolic pathway? *Curr. Atheroscler. Rep.* **14**, 160–166 (2012).
7. Sun, D. *et al.* Type 2 Diabetes and Hypertension: A Study on Bidirectional Causality. *Circ. Res.* **124**, 930–937 (2019).
8. Hiltunen, T. P. & Ylä-Herttuala, S. Expression of lipoprotein receptors in atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* **137**, (1998).
9. Tsikas, D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Anal. Biochem.* **524**, 13–30 (2017).
10. Lara, A. *et al.* Hipercolesterolemia e hipertensión arterial en México. Consolidación urbana actual con obesidad, diabetes y tabaquismo. *Arch. Cardiol. Mex.* **74**, 231–245 (2004).
11. Petrie, J. R., Guzik, T. J. & Touyz, R. M. Diabetes, Hypertension, and Cardiovascular Disease: Clinical Insights and Vascular Mechanisms. *Can. J. Cardiol.* **34**, 575–584 (2018).
12. Jialal I, S. G. Management of diabetic dyslipidemia: An update. *World J. Diabetes* **9358**, 280–290 (2019).
13. Padmanabhan, S. & Dominiczak, A. F. Genomics of hypertension: the road to precision medicine. *Nat. Rev. Cardiol.* (2020). doi:10.1038/s41569-020-00466-4
14. Padmanabhan, S., Aman, A. & Dominiczak, A. F. Genomics of hypertension. *Pharmacol. Res.* **121**, 219–229 (2017).
15. Magavern, E. F. *et al.* An Academic Clinician’s Road Map to Hypertension Genomics. *Hypertension* **77**, 284–295 (2021).
16. Sebastiani, P. *et al.* Genetic signatures of exceptional longevity in humans. *PLoS One* **7**, (2012).
17. Fan, W. *et al.* Associations between polymorphisms of the ADIPOQ gene and

- hypertension risk: A systematic and meta-analysis. *Sci. Rep.* **7**, 1–12 (2017).
18. Clee, S. M., Loubser, O., Collins, J., Kastelein, J. J. P. & Hayden, M. R. The LPL S447X cSNP is associated with decreased blood pressure and plasma triglycerides, and reduced risk of coronary artery disease. *Clin. Genet.* **60**, 293–300 (2001).
 19. Fontana, V., Luizon, M. R. & Sandrim, V. C. An update on the pharmacogenetics of treating hypertension. *J. Hum. Hypertens.* **29**, 283–291 (2015).
 20. Ingelman-Sundberg, M., Mkrтчian, S., Zhou, Y. & Lauschke, V. M. Integrating rare genetic variants into pharmacogenetic drug response predictions. *Hum. Genomics* **12**, 1–12 (2018).
 21. Ríos-González, B. E., Ibarra-Cortés, B., Ramírez-López, G., Sánchez-Corona, J. & Magaña-Torres, M. T. Association of polymorphisms of genes involved in lipid metabolism with blood pressure and lipid values in Mexican hypertensive individuals. *Dis. Markers* **2014**, (2014).
 22. BioAssaySystems. Free Fatty Acid Assay Kit (EFFA-100). (2009).
 23. Spiller, S., Blüher, M. & Hoffmann, R. Plasma levels of free fatty acids correlate with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes, Obes. Metab.* **20**, 2661–2669 (2018).
 24. de Jongh, R. T., Serné, E. H., IJzerman, R. G., de Vries, G. & Stehouwer, C. D. A. Free Fatty Acid Levels Modulate Microvascular Function. *Diabetes* **53**, 2873–2882 (2004).
 25. Jin, J. L., Guo, Y. L. & Li, J. J. Plasma free fatty acids in relation with the severity of coronary artery disease in non-diabetics: A Gensini score assessment. *IJC Metab. Endocr.* **14**, 48–52 (2017).
 26. Matsuda, M. & Shimomura, I. Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. *Obes. Res. Clin. Pract.* **7**, e330–e341 (2013).
 27. Varbo, A., Freiberg, J. J. & Nordestgaard, B. G. Extreme nonfasting remnant cholesterol vs extreme LDL cholesterol as contributors to cardiovascular disease and all-cause mortality in 90000 individuals from the general population. *Clin. Chem.* **61**, 533–543 (2015).
 28. Tafelmeier, M. *et al.* Mildly oxidized HDL decrease agonist-induced platelet aggregation and release of pro-coagulant platelet extracellular vesicles. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **169**, 176–188 (2017).
 29. Krauss, R. M. Lipids and lipoproteins in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Care* **27**, 1496–1504 (2004).
 30. Fatani, S. H., Babakr, A. T., NourEldin, E. E. M. & Almarzouki, A. A. Lipid peroxidation is associated with poor control of type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **10**, S64–S67 (2016).
 31. Barrows, I. R., Ramezani, A. & Raj, D. S. Inflammation, Immunity, and Oxidative Stress in Hypertension—Partners in Crime? *Adv. Chronic Kidney Dis.* **26**, 122–130 (2019).
-

32. Desai, S. N., Farris, F. F. & Ray, S. D. Lipid Peroxidation. *Encycl. Toxicol. Third Ed.* **2**, 89–93 (2014).
33. Ferroni, P., Basili, S., Paoletti, V. & Davì, G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **16**, 222–233 (2006).
34. Croguennec, T. Lipid Oxidation. *Handb. Food Sci. Technol.* 1 99–131 (2016). doi:10.1002/9781119268659.ch4
35. Dean, J. M. & Lodhi, I. J. Structural and functional roles of ether lipids. *Protein Cell* **9**, 196–206 (2018).
36. Ayala, A., Muñoz, M. F. & Argüelles, S. Lipid peroxidation: Production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxid. Med. Cell. Longev.* **2014**, (2014).
37. Laiakis, E. C. *et al.* Metabolic phenotyping reveals a lipid mediator response to ionizing radiation. *J. Proteome Res.* **13**, 4143–4154 (2014).
38. Wu, C. Y. *et al.* High blood pressure and all-cause and cardiovascular disease mortalities in community-dwelling older adults. *Med. (United States)* **94**, e2160 (2015).
39. Martínez-Ezquerro, J. D. *et al.* Oxidative Stress, Telomere Length, and Frailty in an Old Age Population. *Rev. Investig. clínica* **71**, 393–401 (2019).
40. Fagot-Campagna, A. *et al.* High free fatty acid concentration: An independent risk factor for hypertension in the Paris Prospective Study. *Int. J. Epidemiol.* **27**, 808–813 (1998).
41. Touyz, R. M. *et al.* Oxidative Stress: A Unifying Paradigm in Hypertension. *Can. J. Cardiol.* **36**, 659–670 (2020).
42. Rodríguez Chamorro, M. Á., García-Jiménez, E., Amariles, P., Rodríguez Chamorro, A. & José Faus, M. Revisión de tests de medición del cumplimiento terapéutico utilizados en la práctica clínica. *Aten. Primaria* **40**, 413–417 (2008).
43. Amanullah, M., Zaman, G. S., Rahman, J. & Rahman, S. S. Clinical Research Article Lipid peroxidation and the levels of antioxidant enzymes in hypertension. *Free Radicals Antioxidants* **2**, 12–18 (2012).
44. Matsushita, T., Inoue, S. & Tanaka, R. The thiobarbituric acid (TBA) reaction in foods: a review. *J. Am. Oil Chem. Soc.* **87**, 315–330 (2010).
45. Asakawa, T. & Matsushita, S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid peroxides. *Lipids* **14**, 401–406 (1979).
46. Doubova, S. V., Sánchez-García, S., Infante-Castañeda, C. & Pérez-Cuevas, R. Factors associated with regular physical exercise and consumption of fruits and vegetables among Mexican older adults. *BMC Public Health* **16**, 1–9 (2016).
47. Pereira, M. J. *et al.* Impaired adipose tissue lipid storage, but not altered lipolysis, contributes to elevated levels of NEFA in type 2 diabetes. Degree of hyperglycemia and adiposity are important factors. *Metabolism.* **65**, 1768–1780 (2016).

48. Palmisano, B. T., Zhu, L., Eckel, R. H. & Stafford, J. M. Sex differences in lipid and lipoprotein metabolism. *Mol. Metab.* **15**, 45–55 (2018).
 49. Rizos, C. V. Antihypertensive drugs and glucose metabolism. *World J. Cardiol.* **6**, 517 (2014).
 50. Goodfriend, T. L. & Egan, B. M. Nonesterified fatty acids in the pathogenesis of hypertension: Theory and evidence. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* **57**, 57–63 (1997).
 51. Annadurai, T., Vasanthakumar, A., Geraldine, P. & Thomas, P. A. Variations in erythrocyte antioxidant levels and lipid peroxidation status and in serum lipid profile parameters in relation to blood haemoglobin A1c values in individuals with type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **105**, 58–69 (2014).
 52. Kofink, D. *et al.* Statin Effects on Metabolic Profiles: Data from the PREVENT IT (Prevention of Renal and Vascular End-stage Disease Intervention Trial). *Circ. Cardiovasc. Genet.* **10**, 1–9 (2017).
 53. Sahebkar, A. *et al.* Statin therapy and plasma free fatty acids: A systematic review and meta-analysis of controlled clinical trials. *Br. J. Clin. Pharmacol.* **81**, 807–818 (2016).
 54. He, H. *et al.* Telmisartan prevents weight gain and obesity through activation of peroxisome proliferator-activated receptor- δ -dependent pathways. *Hypertension* **55**, 869–879 (2010).
 55. Deshmukh, M., Lee, H. W., McFarlane, S. I. & Whaley-Connell, A. Antihypertensive medications and their effects on lipid metabolism. *Curr. Diab. Rep.* **8**, 214–220 (2008).
 56. H.O.L., L. Effect of antihypertensive drugs on insulin, glucose, and lipid metabolism. *Diabetes Care* **14**, 203–209 (1991).
 57. Cruz-Domínguez, M. P. *et al.* Oxidative stress in Mexicans with diffuse cutaneous systemic sclerosis. *Rheumatol. Int.* **33**, 2261–2267 (2013).
 58. Carlsson, M., Wessman, Y., Almgren, P. & Groop, L. High levels of nonesterified fatty acids are associated with increased familial risk of cardiovascular disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **20**, 1588–1594 (2000).
 59. Robson, R., Kundur, A. R. & Singh, I. Oxidative stress biomarkers in type 2 diabetes mellitus for assessment of cardiovascular disease risk. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **12**, 455–462 (2018).
 60. Chen, H. *et al.* Total cholesterol, arterial stiffness, and systolic blood pressure: a mediation analysis. *Sci. Rep.* **11**, 1–7 (2021).
 61. Fatani, S. H., Babakr, A. T., NourEldin, E. E. M. & Almarzouki, A. A. Lipid peroxidation is associated with poor control of type-2 diabetes mellitus. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.* **10**, S64–S67 (2016).
 62. Sobczak, A. I. S., Blindauer, C. A. & Stewart, A. J. Changes in plasma free fatty acids associated with type-2 diabetes. *Nutrients* **11**, 1–42 (2019).
-

63. Nelson, David L Cox, M. M. Lípidos en *Principios de Bioquímica* 357–379 (2015).
64. Instituto Nacional de Salud Pública (INSP), *Encuesta Nacional de Salud y Nutrición*. Disponible en:
<https://ensanut.insp.mx/encuestas/ensanut2016/doctos/informes/ENSANUT2016ResultadosNacionales.pdf>. Consultado el 20 de Septiembre de 2020.
65. Organización Mundial de la Salud (OMS), *Hipertensión*. Disponible en:
<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/hypertension> . Consultado el 4 de noviembre de 2020.
66. Subsecretaría de Integración y Desarrollo del Sector Salud, *Informe sobre la Salud de los Mexicanos*. Disponible en:
https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/64176/INFORME_LA_SALUD_DE_LOS_MEXICANOS_2015_S.pdf. Consultado el 28 de octubre 2021.

Anexo 1. Tablas comparativas de los niveles de ácidos grasos libres y lípidos peroxidados en la población de estudio.

Tabla A1. Concentración de ácidos grasos libres (AGL, μM) en la población de estudio considerando el tratamiento antihipertensivo en pacientes controlados ($<140/90$ mmHg) versus no controlados ($\geq 140/90$ mmHg).

Concentración de ácidos grasos libres (μM)				
Población total	Total N=344	Controlados ($<140/90$ mm Hg), N= 231	No controlados ($\geq 140/90$ mm Hg), N= 113	Valor de p
		383.0 \pm 228.9 (5.5-1454.0)	375.8 \pm 227.6 (5.5-1454.0)	397.7 \pm 231.8 (16.4-1344.0)
Tratamiento con antihipertensivos				
ARA II	N= 195	N=126	N=69	0.237
	400.3 \pm 245.9 (5.5-1454.0)	385.1 \pm 241.0 (5.5-1454.0)	428.1 \pm 254.1 (19.2-1344.0)	
IECAS	N= 114	N= 77	N= 37	0.889
	361.1 \pm 195.5 (16.5-1026.0)	362 \pm 199.1 (55.9-1026.0)	359.2 \pm 190.4 (16.5-705.4)	
BCC	N= 90	N= 57	N= 33	0.670
	426.0 \pm 284.1 (17.0-1454.0)	434.3 \pm 279.3 (17.0-1454.0)	411.8 \pm 296.1 (19.2-1344.0)	
Diuréticos	N= 97	N= 67	N= 30	0.498
	393.4 \pm 203.8 (17.0-965.7)	382.3 \pm 204.7 (17.0-965.7)	418.1 \pm 202.9 (41.4-819.8)	

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney. Los valores se reportan con la media \pm la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

Tabla A2. Lípidos peroxidados (LPO, μM) en la población de estudio considerando el tratamiento antihipertensivo en pacientes controlados (<140/90 mmHg vs. no controlados (\geq 140/90 mmHg).

Concentración de lípidos peroxidados (μM)				
	Total N=286	Controlados (<140/90 mm Hg), N= 197	No controlados (\geq 140/90 mm Hg), N= 89	Valor de p
Población total	4.2 \pm 4.4 (0.043-31.8)	4.1 \pm 4.0 (0.043- 24.9)	4.2 \pm 5.0 (0.050- 31.8)	0.606
ARA II	N= 163 4.4 \pm 5.01 (0.043-31.8)	N= 108 4.3 \pm 4.6 (0.043- 24.9)	N= 55 4.5 \pm 5.8 (0.050- 31.8)	0.637
IECAS	N= 95 4.01 \pm 3.5 (0.24-16.9)	N= 65 4.1 \pm 3.5 (0.24- 16.9)	N= 30 3.7 \pm 3.5 (0.45- 13.6)	0.390
BCC	N= 80 4.8 \pm 4.9 (0.061-24.6)	N= 54 4.8 \pm 4.8 (0.19- 24.6)	N= 26 4.7 \pm 5.04 (0.061- 24.4)	0.986
Diuréticos	N= 84 4.3 \pm 4.4 (0.050-31.8)	N= 60 4.4 \pm 3.3 (0.10- 13.0)	N= 24 4.2 \pm 6.6 (0.050- 31.8)	0.139

* Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney. Los valores se reportan con la media \pm la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

Tabla A3. Concentración de lípidos peroxidados (LPO, μM) de acuerdo con el tratamiento antihipertensivo en hombres y mujeres.

Concentración de lípidos peroxidados (μM)				
Población total	Total N=286	Hombres N= 138	Mujeres N= 148	Valor de p
	4.2 \pm 4.4 (0.043-31.8)	4.3 \pm 4.4 (0.050-24.9)	4.0 \pm 4.3 (0.043-31.8)	
Tratamiento con antihipertensivos				
ARA II	N= 163	N= 82	N= 81	0.739
	4.4 \pm 5.0 (0.050-31.8)	4.3 \pm 4.9 (0.050-24.9)	4.4 \pm 5.1 (0.043-31.8)	
IECAS	N= 94	N= 45	N= 49	0.832
	4.0 \pm 3.4 (0.24-16.9)	4.1 \pm 3.6 (0.24-13.6)	3.8 \pm 3.3 (0.50-16.9)	
BCC	N= 80	N= 40	N= 40	0.529
	4.8 \pm 4.9 (0.061-24.6)	4.9 \pm 4.8 (0.23-24.6)	4.6 \pm 5.0 (0.061-24.4)	
Diuréticos	N= 84	N= 34	N= 50	0.217
	4.3 \pm 4.4 (0.050-31.8)	3.6 \pm 3.03 (0.050-9.2)	4.8 \pm 5.1 (0.19-31.8)	

*Valor de p para una prueba U de Mann-Whitney. Los valores se reportan con la media \pm la desviación estándar, así como, el rango entre el valor mínimo y el máximo.

Anexo 2. Datos esperados y observados de presión arterial de acuerdo con los modelos lineales generalizados y el modelo logístico.

Tabla A4. Niveles de PAS esperados y observados en la población de estudio.

No. de paciente	PAS esperada	PAS observada
1	137	132.0
2	176	131.3
3	130	128.9
4	128	134.3
5	125	139.2
6	139	132.3
7	164	134.2
8	150	130.6
9	104	133.2
10	151	137.7
11	149	134.4
12	179	134.5
13	139	130.5
14	102	128.2
15	131	126.7
16	133	132.2
17	124	134.7
18	98	130.4
19	124	124.9
20	125	129.4
21	117	129.1
22	123	128.0
23	125	142.7
24	110	126.5
25	139	134.0
26	108	126.4
27	135	136.3
28	114	126.8
29	120	132.8
30	166	135.4
31	118	129.5

32	112	130.0
33	136	134.6
34	103	129.0
35	122	134.1
36	115	138.3
37	117	134.6
38	145	132.9
39	128	127.5
40	137	139.8
41	125	135.1
42	152	136.8
43	108	136.5
44	143	134.2
45	131	136.0
46	116	138.2
47	104	134.3
48	106	131.1
49	114	130.3
50	109	130.2
51	114	138.6
52	123	133.0
53	148	130.6
54	111	126.8
55	127	128.4
56	151	126.9
57	111	136.2
58	112	131.5
59	134	125.3
60	94	125.7
61	142	130.3
62	143	129.7
63	140	124.9
64	146	129.4
65	137	129.6

66	123	127.4
67	96	127.2
68	135	130.3
69	137	127.7
70	103	129.7
71	125	127.0
72	123	131.3
73	135	126.7
74	101	134.3
75	112	132.0
76	132	135.9
77	132	132.0
78	119	130.1
79	129	126.7
80	111	128.3
81	125	137.6
82	119	125.7
83	89	129.4
84	139	131.3
85	99	129.8
86	152	130.8
87	159	123.3
88	132	128.7
89	113	134.5
90	107	131.1
91	112	125.1
92	147	136.1
93	134	128.6
94	153	136.9
95	121	127.4
96	174	131.7
97	174	131.3
98	124	127.3
99	137	127.7
100	125	132.3
101	131	124.6
102	162	128.3
103	138	137.4
104	149	129.7

105	113	131.6
106	144	136.5
107	124	132.9
108	127	123.7
109	134	128.4
110	128	138.3
111	166	128.6
112	109	138.9
113	148	130.2
114	124	139.2
115	114	130.0
116	163	129.3
117	140	135.5
118	140	128.5
119	165	128.2
120	109	137.3
121	126	131.7
122	105	129.5
123	122	129.2
124	109	128.8
125	131	126.8
126	138	132.1
127	154	128.3
128	143	130.1
129	110	131.5
130	131	128.1
131	133	127.6
132	105	126.1
133	119	132.7
134	149	136.9
135	179	128.2
136	149	131.7
137	116	131.1
138	118	128.8
139	112	130.2
140	121	132.5
141	100	128.3
142	166	138.1
143	121	133.8

144	123	124.4
145	115	134.0
146	173	133.1
147	121	129.1
148	122	138.4
149	124	131.0
150	145	137.4
151	129	138.2
152	136	133.9
153	114	129.4
154	115	131.5
155	145	139.7
156	141	128.5
157	104	132.8
158	105	131.3
159	153	134.0
160	157	128.5
161	143	135.0
162	123	126.3
163	117	124.3
164	122	133.0
165	102	132.7
166	175	142.9
167	153	134.7
168	141	137.1
169	137	137.8
170	132	132.6
171	122	128.4
172	149	134.5
173	123	124.8
174	104	131.6
175	133	126.6
176	134	133.8
177	168	128.6
178	107	121.9
179	104	130.0
180	143	143.0
181	164	126.2
182	90	127.2

183	137	128.4
184	153	135.4
185	134	134.1
186	130	139.8
187	118	130.8
188	125	134.3
189	126	131.0
190	116	131.6
191	141	134.6
192	122	131.0
193	149	131.5
194	114	129.5
195	90	133.9
196	113	126.0
197	127	133.3
198	123	133.2
199	134	137.7
200	128	135.4
201	99	127.2
202	158	130.7
203	125	124.7
204	111	127.8
205	114	127.9
206	137	130.8
207	102	141.0
208	165	131.0
209	123	130.7
210	120	126.1
211	150	142.2
212	144	137.8
213	117	134.1
214	134	135.7
215	165	134.8
216	113	129.6
217	142	133.7
218	143	133.7
219	156	128.1
220	127	130.2
221	126	136.6

222	119	136.2
223	132	140.6
224	111	137.1
225	107	131.1
226	89	128.3
227	137	136.8
228	138	134.5
229	128	137.1
230	174	136.7
231	139	131.4
232	140	133.4
233	107	132.3
234	138	132.2
235	161	132.9
236	182	132.5
237	113	132.5
238	112	129.6
239	160	133.6
240	122	132.2
241	163	131.5
242	130	131.6
243	145	135.6
244	132	132.3
245	130	132.0
246	188	130.7
247	136	132.6
248	104	131.1
249	117	130.7
250	116	129.1
251	131	129.9
252	121	132.0
253	149	130.1
254	148	131.8
255	145	131.9
256	153	134.4
257	134	133.8
258	138	137.2
259	130	133.3
260	101	130.5

261	123	133.2
262	132	131.7
263	131	136.3
264	113	130.3
265	143	131.6
266	108	130.8
267	133	130.1
268	122	130.4
269	168	132.8
270	142	132.3
271	130	134.4
272	151	135.1
273	130	134.1
274	130	130.3
275	147	133.2
276	160	134.4
277	167	128.7
278	131	131.8
279	132	131.9
280	141	132.9
281	118	130.9
282	139	133.6
283	217	134.0
284	165	133.9
285	187	135.7
286	125	131.5
287	139	132.0
288	129	132.1
289	143	130.4
290	144	133.0
291	122	133.6
292	122	131.7
293	142	132.9
294	138	128.9
295	129	132.2
296	180	132.3
297	128	133.8
298	117	129.6
299	135	131.7

300	135	130.6
301	172	130.5
302	126	132.0
303	142	129.5
304	132	136.0
305	79	130.1
306	103	131.1
307	115	129.8
308	89	132.1
309	139	130.0
310	122	129.7
311	152	133.8
312	142	132.7
313	159	133.3
314	120	132.5
315	145	132.7
316	134	131.4
317	136	132.4
318	101	132.2
319	153	135.9
320	129	131.0
321	136	133.0
322	107	129.6

323	117	131.0
324	124	130.9
325	149	134.3
326	122	129.6
327	144	131.6
328	112	135.3
329	170	134.8
330	145	132.0
331	129	129.2
332	142	128.7
333	141	133.5
334	110	133.9
335	139	132.2
336	178	130.9
337	137	129.2
338	171	128.8
339	150	134.8
340	130	131.3
341	177	131.4
342	133	137.9
343	131	132.3
344	139	136.6

Tabla A5. Niveles de PAD esperados y observados en la población de estudio.

No. de paciente	PAD esperada	PAD observada
1	88	76.4
2	90	74.5
3	67	72.7
4	67	74.0
5	85	83.3
6	78	73.7
7	93	80.4
8	98	69.9
9	59	71.6
10	81	79.1
11	83	73.5
12	92	77.6
13	69	74.4
14	66	73.4
15	66	72.6
16	72	66.7
17	64	70.2
18	54	73.0
19	60	66.1
20	64	75.7
21	61	78.1
22	60	64.3
23	81	78.6
24	62	62.7
25	63	70.1
26	70	69.9
27	55	73.3
28	58	63.1
29	60	73.2
30	98	71.2
31	74	77.5
32	62	71.3
33	80	76.5
34	68	72.9
35	55	71.1

36	76	80.6
37	67	78.1
38	60	71.7
39	65	70.4
40	87	82.0
41	81	76.0
42	70	73.6
43	67	80.4
44	88	82.3
45	82	83.3
46	63	77.0
47	78	79.8
48	53	69.8
49	90	77.4
50	62	65.8
51	69	79.4
52	76	66.0
53	79	73.6
54	75	68.3
55	61	67.5
56	86	74.2
57	64	75.2
58	51	68.3
59	80	73.6
60	63	66.1
61	63	68.0
62	61	68.8
63	77	66.8
64	65	71.4
65	63	72.0
66	60	62.4
67	55	62.0
68	71	76.4
69	67	73.8
70	62	75.0
71	68	66.3
72	59	69.1

73	69	69.0
74	70	77.9
75	52	76.1
76	75	71.6
77	87	68.4
78	53	67.2
79	63	64.7
80	60	68.9
81	75	79.9
82	69	69.2
83	50	72.7
84	63	63.0
85	61	72.1
86	87	76.0
87	69	64.2
88	59	72.0
89	53	78.4
90	63	77.9
91	56	72.1
92	73	70.4
93	80	73.5
94	84	63.2
95	77	69.1
96	91	71.6
97	85	67.1
98	77	72.9
99	64	67.7
100	63	65.0
101	71	67.4
102	62	64.7
103	67	73.8
104	69	65.0
105	64	71.7
106	82	73.7
107	59	66.3
108	62	65.8
109	70	70.8
110	72	81.8
111	88	70.9

112	67	80.6
113	79	68.0
114	77	82.8
115	68	76.2
116	73	65.4
117	58	77.0
118	72	61.3
119	74	64.5
120	66	81.8
121	81	73.9
122	63	71.6
123	71	71.1
124	58	71.8
125	73	63.1
126	69	73.7
127	106	74.1
128	90	76.8
129	65	74.3
130	73	66.8
131	72	73.7
132	62	68.5
133	72	77.0
134	79	73.8
135	97	68.3
136	71	69.7
137	66	71.6
138	65	68.0
139	58	68.9
140	57	63.9
141	62	63.3
142	98	83.2
143	80	76.1
144	76	68.8
145	63	71.8
146	66	68.0
147	72	74.6
148	63	82.0
149	75	76.5
150	89	82.2

151	65	80.5
152	93	76.9
153	73	66.0
154	67	74.8
155	80	80.3
156	73	74.0
157	53	65.3
158	71	75.6
159	74	72.8
160	81	73.8
161	79	74.2
162	71	71.6
163	70	72.3
164	73	77.4
165	46	72.8
166	83	85.3
167	91	72.2
168	62	77.3
169	62	67.9
170	68	71.1
171	66	75.3
172	93	76.1
173	78	73.8
174	59	76.6
175	85	72.1
176	69	73.4
177	84	74.7
178	60	62.4
179	64	71.6
180	85	82.4
181	90	69.4
182	50	74.4
183	65	71.8
184	64	71.1
185	62	76.9
186	60	74.0
187	68	72.4
188	62	67.0
189	73	71.8

190	80	75.3
191	81	78.4
192	71	72.4
193	74	72.9
194	80	73.4
195	76	73.3
196	71	73.7
197	65	74.9
198	77	78.0
199	80	80.5
200	81	78.1
201	49	66.8
202	87	73.1
203	78	68.7
204	53	67.1
205	70	74.1
206	69	67.4
207	73	82.0
208	76	72.6
209	76	74.9
210	62	71.6
211	70	81.0
212	82	77.6
213	83	78.7
214	65	74.2
215	88	76.6
216	65	76.3
217	79	80.6
218	86	73.3
219	79	69.4
220	79	74.3
221	76	76.8
222	70	74.9
223	69	80.9
224	65	77.4
225	66	71.6
226	60	73.8
227	72	71.4
228	68	69.7

229	76	74.5
230	107	67.2
231	72	73.1
232	88	76.3
233	63	73.8
234	89	74.2
235	79	71.1
236	99	72.8
237	62	75.0
238	56	72.0
239	88	75.7
240	75	73.2
241	86	76.0
242	72	75.0
243	84	75.2
244	88	76.8
245	80	77.3
246	89	79.3
247	72	78.2
248	74	76.1
249	74	77.6
250	75	75.5
251	83	72.7
252	80	75.9
253	88	77.0
254	69	77.0
255	77	78.5
256	75	75.6
257	78	80.9
258	92	84.6
259	88	80.1
260	62	77.6
261	90	80.4
262	80	79.6
263	82	83.5
264	64	78.2
265	78	80.8
266	68	79.1
267	72	75.9

268	69	74.2
269	90	78.9
270	82	79.0
271	78	81.0
272	106	80.6
273	88	79.8
274	79	80.9
275	88	79.7
276	94	80.3
277	88	77.4
278	84	77.0
279	80	75.9
280	83	76.4
281	77	79.5
282	96	81.0
283	119	75.0
284	94	77.0
285	95	79.5
286	80	80.5
287	81	75.7
288	86	80.5
289	88	80.0
290	89	78.7
291	79	81.1
292	87	81.4
293	83	74.8
294	67	70.4
295	82	73.9
296	85	76.1
297	81	79.2
298	73	78.7
299	75	75.4
300	68	78.7
301	92	78.9
302	89	78.2
303	74	71.7
304	84	82.3
305	62	75.8
306	81	76.0

307	68	75.2
308	59	79.6
309	98	76.8
310	76	70.4
311	82	73.8
312	90	79.6
313	85	78.6
314	67	80.3
315	85	80.2
316	88	80.5
317	84	80.3
318	61	63.2
319	93	82.9
320	76	74.2
321	72	78.4
322	63	75.8
323	76	75.3
324	87	80.6
325	76	66.4

326	66	70.2
327	73	76.3
328	76	78.7
329	88	76.8
330	61	72.4
331	72	71.8
332	69	72.9
333	70	77.8
334	62	71.5
335	78	81.2
336	84	79.8
337	77	74.4
338	75	68.9
339	87	82.0
340	82	72.8
341	89	79.1
342	83	80.8
343	88	76.8
344	99	84.1