Elevación del cortisol urinario en hipertensos esenciales hiporreninémicos

Paola Krall O^a, Lorena Mosso G, Cristián Carvajal M^b, Auristela Rojas O^c, Carlos Fardella B.

Free urinary cortisol is elevated in patients with low-renin essential hypertension

Background: Glucocorticoids play a key role in blood pressure (BP) control and are associated with hypertension in patients with Cushing's syndrome. A number of reports indicate that cortisol (F) may be involved in etiology of essential hypertension (EH). F can bind to the mineralocorticoid receptor, triggering both sodium and water reabsorption in kidney, increase BP and cause renin suppression. **Aim:** To evaluate urinary free cortisol (UFF) excretion as a potential intermediate phenotype of essential hypertension and correlate F level with plasma renin activity (PRA) and serum aldosterone (SA). **Patients and Methods:** We recruited 132 EH patients and 16 normotensive healthy controls. Blood samples and 24 hours urine were collected for PRA, SA and UFF analysis. Differences in UFF excretion between sexes were normalized by urinary creatinine (Creat) excretion. The upper limit of UFF/Creat was determined in normotensives considering the mean value plus 2 standard deviations. According to this value, subjects were classified as having high or normal UFF. **Results:** In EH patients and in normotensives, the UFF/Creat was 36.9 ± 17.0 $\mu\text{g/gr}$ and 30.9 ± 8.8 $\mu\text{g/gr}$, respectively. The upper limit was set at 48.5 $\mu\text{g/gr}$. A high UFF/Creat was found in 20/132 EH (15%) patients and 0/16 normotensive subjects. EH patients with high UFF showed lower PRA levels than patients with normal cortisol levels (0.78 ± 0.47 vs. 1.13 ± 0.66 $\text{ng/ml}^*\text{h}$, respectively, $p=0.027$) and lower SA values (4.52 ± 1.65 vs 6.34 ± 3.37 ng/dl , respectively, $p=0.018$). There was a negative correlation between UFF and PRA ($r=-0.176$, $p=0.044$) and between UFF and SA ($r=-0.183$, $p=0.036$). **Conclusions:** We have identified a subgroup of EH patients with increased UFF excretion. Patients with the highest UFF showed lower renin and aldosterone levels. These data suggest a potential influence of cortisol in the genesis of hypertension (Rev Méd Chile 2004; 132: 1053-9).

(Key words: Aldosterone; Glucocorticoids; Hydrocortisone; Hypertension; Renin)

Recibido el 29 de enero, 2004. Aceptado en versión corregida el 12 de julio, 2004.

Apoyo financiero: Fondecyt 101-1035 y 104-0834.

Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago de Chile.

^aEstudiante de Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Chile

^bBioquímico

^cTecnóloga Médica

Correspondencia a: Carlos E Fardella, MD. Departamento de Endocrinología y Metabolismo, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile. Lira 85, 5° piso, Santiago, Chile. Fono: (562) 354-3813. Fax: (562) 638-5675. E mail: cfardella@med.puc.cl

La hipertensión arterial (HTA) constituye una de las patologías más relevante y con mayor impacto en la salud de la población, estimándose que afecta alrededor de 20-25% de la población adulta y que se asocia a una alta morbilidad cardiovascular¹⁻³. Sin embargo, en la mayoría de los casos de HTA no se ha encontrado una etiología clara por lo que se denomina esencial. Un subtipo de HTA esencial es la HTA hiporreninémica que se estima correspondería a 20% de la población de hipertensos⁴. En la HTA hiporreninémica se ha planteado que la supresión de renina y la elevación de la presión arterial podrían explicarse a través de una síntesis excesiva de mineralocorticoides⁵⁻⁸. Esta hipótesis fue estudiada por nuestro grupo concluyendo que alrededor de 40% de estos hipertensos (equivalentes al 8% del total de los hipertensos esenciales) presentan una excesiva producción de mineralocorticoides, debido a un hiperaldosteronismo primario no diagnosticado⁹⁻¹². El diagnóstico de esta afección se certificó con mediciones en plasma de aldosterona y renina así como con test específicos de estímulo y frenación que terminaron por desenmascarar un alto número de pacientes afectados¹³⁻¹⁵. Estas cifras se avalan por estudios multicéntricos que dan una prevalencia entre 5 y 15%, dependiendo de la gravedad del cuadro hipertensivo.

Recientemente, se han planteado otras alternativas al diagnóstico diferencial de HTA hiporreninémica, como son las alteraciones de cortisol (F). En la actualidad se sabe que F puede unirse con igual afinidad que la aldosterona al receptor de mineralocorticoides, lo cual no ocurre *in vivo*, gracias a la acción de la enzima 11 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa tipo 2 (11 β -HSD2). Esta enzima es la encargada de convertir el cortisol (F) a cortisona (E), impidiendo con ello la unión de F al receptor de mineralocorticoides. Sin embargo en condiciones de déficit de la 11 β -HSD2 o en aumento en los niveles F, el cortisol sería capaz de unirse y activar al receptor de mineralocorticoides, determinando una mayor reabsorción de sodio y agua, elevándose la presión arterial y secundariamente suprimiendo la actividad de renina plasmática^{16,17}.

El objetivo de este trabajo será evaluar si hipertensos catalogados como esenciales presentan cifras de F elevadas, y si éstas se correlacionan con los niveles de renina y aldosterona que

permitan explicar el mecanismo fisiopatológico subyacente. De confirmarse la presencia de este tipo de alteraciones, podrá darse una explicación racional a la génesis de la HTA de otro grupo de pacientes que continúan siendo esenciales, permitiendo un tratamiento específico.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes. Se estudiaron 132 pacientes hipertensos esenciales (HE) provenientes de un consultorio de atención primaria del área de Puente Alto (Consultorio Pirque). Todos los sujetos que ingresaron al estudio tenían diagnóstico de HTA en, base a cifras de PA $\geq 140/90$ mmHg mantenida en al menos, 3 determinaciones separadas por una semana de intervalo y ausencia de patologías crónicas que pudiesen afectar la medición de renina o que provoquen HTA secundaria, tales como: insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca, daño hepático crónico o endocrinopatías. Como controles, se estudiaron 16 sujetos normotensos que presentaran cifras de PA $< 140/90$ mmHg, determinadas en, al menos, 2 ocasiones. Las características clínicas y bioquímicas de los hipertensos y normotensos se muestran en la Tabla 1. La PA fue determinada con un esfigmomanómetro de mercurio. A todos los pacientes se les solicitó consentimiento informado para participar en el estudio de acuerdo a las normas de la Declaración de Helsinki y el protocolo fue aprobado por la Comisión de Investigación de la Universidad Católica de Chile.

Métodos. Todos los pacientes fueron ingresados a nuestro estudio entre las 9:00 y 10:00 h, después de un ayuno de 12 h. Todos ellos se encontraban en una dieta libre en sodio y, dos semanas previas al estudio, se les cambió la terapia antihipertensiva por fármacos que no afectaban el eje renina-angiotensina-aldosterona^{18,19}. Posteriormente, se les dejó en reposo sentado por 10 min y se les colocó un catéter en la vena antecubital para tomar las muestras de sangre necesarias para medir los niveles plasmáticos de sodio, potasio, calcio, albúmina, nitrógeno ureico, creatinina, actividad de renina (ARP) y aldosterona (AP). Se determinó en orina de 24 h el nivel de cortisol libre en orina (FLU) y creatinina (Creat). La ARP fue determinada

Tabla 1. Características clínicas y bioquímicas de la población estudiada

	Hipertensos	Normotensos
n [H/M]	132 [42/90]	16 [4/12]
Edad (años)	55,3±14,7	50,9±5,3
IMC (kg/m ²)	29,4±5,8	26,5±5,7
Presión arterial (mm Hg)		
Sistólica	153±14	113±9
Diastólica	96±8	75±7
Na ⁺ plasmático (mEq/l)	139,5±2,7	139,5±2,9
K ⁺ plasmático (mEq/l)	4,5±0,5	4,4±0,7
Na ⁺ urinario (mEq/gr Creat)	157,1±69,6	153,4±53,8
AP (ng/dl)	6,0±3,2	7,0±2,3
ARP (ng/ml*h)	1,1±0,7	1,6±0,5
FLU/Creat (µg/gr)	36,9±17,0	30,9±8,8

Los valores se presentan como media ± 1 desviación estándar. H: hombres; M: mujeres; IMC: índice de masa corporal; AP: aldosterona plasmática; ARP: actividad renina plasmática.

por el método previamente descrito por Menard²⁰ y su valor normal oscila entre 1-2,5 ng/ml*hr, operacionalmente, se consideraron niveles bajos de ARP cuando éstos eran <0,5. El límite inferior de detección de la ARP es 0,1 ng/ml*hr¹³. El coeficiente de variación intra e interensayo fue de 6,1% y 8,2%, respectivamente. La AP fue medida por un *kit* comercial de *Diagnostic Products Corp* (Los Angeles, California, USA), cuyo valor normal es 1-16 ng/dl. El coeficiente de variación intra e interensayo para la AP fue de 5,1% y 7,1% respectivamente. La determinación de F se hizo con un ensayo de RIA desarrollado en nuestro laboratorio, usando como trazador F marcado con tritio [³H] (actividad específica 80 Ci/mmol, Amersham, UK) y un anticuerpo anti-F obtenido de conejo. La técnica utiliza un volumen de 100 µl de orina de cada paciente, al cual se le añaden 2 ml de diclorometano (CH₂Cl₂) para extraer el F a la fase orgánica. Los niveles de F se midieron por triplicado en cada paciente. Para la elaboración de la curva estándar se prepararon diluciones seriadas de F no marcado. El ensayo de competencia se mantuvo por 20-22 h a 4°C con 100 µl de [³H]-F (Dilución 1:50.000) y 300 µl de anticuerpo anti-F (Dilución 1:50.000). Una vez terminado el tiempo de incubación se usó carbón-dextrano para eliminar el F no unido. El sobrenadante se vertió en viales con 10 ml de líquido de centelleo, y después de 4 h se midió la radioactividad. La determinación de excreción urinaria de

creatinina (Creat) se determinó por la técnica Jaffe²¹.

Estadística. Los datos se presentan como promedio ± desviación estándar (DS). El análisis estadístico se realizó con el *software* Sigma Plot 5.0 y Sigma Stat 2.0 para Windows 98. Los valores FLU/Creat se consideraron anormales cuando superaban dos desviaciones estándar por encima del promedio de los controles normotensos. Posteriormente los sujetos hipertensos en estudio fueron divididos en aquellos con cortisol elevado y normal. Para comparar diferencias entre grupos se usaron los tests de χ^2 y Mann-Whitney U. Para ver correlación entre FLU-ARP y FLU-AP se utilizó una regresión lineal y test de Pearson. Valores de p (0,05 se consideraron significativos).

RESULTADOS

Los niveles de F fueron de 36,9±17,0 µg/gr en hipertensos y de 30,9 ± 8,8 µg/gr en normotensos. El límite de corte superior para el FLU fue 48,5 µg/gr. Se encontraron niveles elevados de FLU >2 DS en 20/132 pacientes hipertensos (15%) y en ninguno de los 16 controles normotensos. En pacientes hipertensos con FLU elevado el valor del cortisol fue 67,5±20,8 µg/gr, y en el grupo con cortisol normal 31,4±8,2 µg/gr.

En el grupo de pacientes hipertensos con FLU elevado, los valores promedio de ARP fueron significativamente menores que en los pacientes con FLU normal ($0,78 \pm 0,47$ vs $1,13 \pm 0,66$ ng/ml*h, $p=0,027$) (Figura 1). El grupo de hipertensos con FLU alto presentó un mayor porcentaje de pacientes hiporreninémicos que aquellos hipertensos que presentaban valores normales o bajos de F (50% vs 21% , $p=0,016$).

El grupo de hipertensos con FLU elevado presentó valores promedio de aldosterona plas-

mática significativamente menores que en pacientes con FLU normal ($4,52 \pm 1,65$ ng/dl vs $6,34 \pm 3,37$ ng/dl, $p=0,018$) (Figura 2). Además un mayor porcentaje de pacientes hipoaldosterónicos fue detectado en HE con FLU alto que en aquellos paciente con FLU normal (70% vs 39% , $p=0,021$).

Los estudios de regresión lineal simple mostraron una correlación negativa entre FLU vs ARP ($r=-0,176$, $p=0,044$) y entre FLU vs AP ($r=-0,183$, $p=0,036$) tal como se muestra en las Figuras 3 y 4.

FIGURA 1. Niveles de actividad renina plasmática (ARP) en los grupos con cortisol urinario libre/creatinina (FLU/Creat) elevado y normal. Las barras representan el porcentaje de error.

FIGURA 2. Niveles de aldosterona plasmática (AP) en los grupos con FLU/Creat elevado y normal. Las barras representan el porcentaje de error.

FIGURA 3. Correlación entre los valores de FLU/Creat en orina de 24 h y actividad renina plasmática (ARP) en hipertensos esenciales.

FIGURA 4. Correlación entre los valores de FLU/Creat en orina de 24 h y aldosterona plasmática (AP) en hipertensos esenciales.

DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio demuestran que un subgrupo de hipertensos esenciales presentan niveles de cortisol libre urinario elevado, los cuales se correlacionaron en forma negativa con los niveles plasmáticos de renina y aldosterona.

La elevación del FLU en estos pacientes podría estar apuntando al mecanismo fisiopatológico que determina la elevación de la presión arterial y las alteraciones bioquímicas detectadas. Así, la elevación del cortisol podría sobrepasar la actividad de la 11 β HSD2 (encargada de convertir el cortisol en su metabolito inactivo cortisona) y activar anor-

malmente al receptor de mineralocorticoide, gatillando una mayor reabsorción de sodio y agua a nivel renal, y con ello la aparición de HTA y la supresión de renina²². La caída en los valores de renina plasmática podría determinar la disminución en los valores de aldosterona plasmática y con ello avalar la existencia de un mecanismo como el propuesto.

En la literatura se han descrito hallazgos semejantes a los nuestros en diferentes poblaciones con elevación de cortisol (F) o de metabolitos de F en orina de hipertensos esenciales. Lichtfield, estudió 153 hipertensos y determinó que alrededor de 30% de ellos presentaban elevación del FLU²³. Por otra parte, Shamim comunicó en 2001, un estudio de 60 hipertensos en los cuales se encontraban elevados en orina metabolitos del cortisol, elevación que se correlacionaba en forma directa con las cifras de presión arterial sistólica²⁴. A su vez, Chrousos comunicó un caso de hipertensión familiar con elevación de los niveles de F y otros esteroides en plasma y orina excluyendo síndrome de Cushing²⁵. Asimismo, Gómez-Sánchez detectó una mayor concentración de F libre urinario en 47 hipertensos que en 37 sujetos sanos normotensos, pero no encontró diferencias en los niveles de metabolitos urinarios de F entre ambos grupos²⁶. Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, en ninguno de estos trabajos se realizaron determinaciones paralelas de renina y aldosterona que ayuden a entender el mecanismo fisiopatológico subyacente.

El origen del hipercortisolismo en este estudio no fue determinado, pero dada la ausencia de estigmas clínicos sugerentes de síndrome de Cushing, sólo dos entidades diagnósticas debieran ser planteadas. Una de ellas es el Cushing subclínico el cual se presenta con una frecuencia que es entre 20-30 veces mayor que el Cushing clínico, y generalmente corresponde a microadenomas suprarrenales que son detectados en forma incidental^{27,28}. El otro es el síndrome de resistencia a glucocorticoides, en el cual también existe una elevación del cortisol y ausencia de estigmas cushingoideos, pero el mecanismo que opera es diferente. En estos casos, la elevación de F se explica por una pérdida de sensibilidad del receptor de glucocorticoides por F. Esto gatilla el aumento de ACTH y secundariamente de F que explica el aumento de cortisol en plasma y orina^{29,30}. Recientemente, Mulatero et al, compararon *in vitro* las afinidades de los glucocorticoides por su receptor específico en células mononucleares de hipertensos y normotensos, demostrando que la unión del cortisol al receptor de glucocorticoides está parcialmente impedida en el grupo de hipertensos, sugiriendo que un estado de resistencia a glucocorticoides podría estar operando en la génesis de la HTA de estos pacientes³¹.

En suma, en este estudio demostramos que algunos hipertensos catalogados como esenciales presentan una elevación del cortisol urinario que podría estar implicado en la génesis del cuadro hipertensivo, a través de una activación patológica del receptor de mineralocorticoides.

REFERENCIAS

1. DANNENBERG AL, GARRISON RJ, KANNEL WB. Incidence of hypertension in the Framingham study. *Am J Publ Health* 1998; 78: 676-9.
2. KANNEL WB. Elevated systolic blood pressure as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol* 2000; 85: 251-5.
3. BRUNNER HR, LARAGH JH, BAER L, NEWTON MA, GOODWIN FT, KRAKOFF LR ET AL. Essential hypertension: renin and aldosterone, heart attack and stroke. *N Engl J Med* 1972; 286: 441-9.
4. WILLIAMS G, MOORE T, HOLLENBERG N. Dysregulation of aldosterone secretion and its relationship to the pathogenesis of essential hypertension. *Endocrinol Metab Clin North Amer* 1991; 20: 423-47.
5. KOMIYA I, YAMADA T, AIZAWA T, TAKASU N, NIWA A, MARUYAMA Y ET AL. Inappropriate elevation of the aldosterone/plasma renin activity ratio in hypertensive patients with increases of 11-deoxycorticosterone and 18-OH-11-deoxycorticosterone: a subtype of essential hypertension? *Cardiology* 1991; 78: 99-110.
6. GRIFFING GT, WILSON TE, MELBY JC. Unconjugated and conjugated 19-nor-deoxycorticosterone glucosiduronate. Elevated levels in essential hypertension. *Hypertension* 1985; 7(S1): I12-7.
7. TAKEDA Y, MIYAMORI I, TAKEDA R. Significance of 19-nor aldosterone, a new mineralocorticoid, in clinical and experimental hypertension. *Steroids* 1995; 60: 137-42.
8. GORDON RD, ZIESAK MD, TUNNY TJ, STOWASSER M, KLEMM SA. Evidence that primary aldosteronism

- may not be uncommon: 12% incidence among hypertensive drug trial volunteers. *J Clin Exp Pharmacol Physiol* 1993; 20: 296-8.
9. FARDELLA CE, MOSSO L, GÓMEZ-SÁNCHEZ C, CORTÉS P, SOTO J, GÓMEZ L ET AL. Primary aldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile and molecular biology. *J Clin Endocrin Metab* 2000; 85: 1863-7.
 10. MOSSO L, FARDELLA CE, MONTERO J, ROJAS P, SANCHEZ O, ROJAS V ET AL. Alta prevalencia de hiperaldosteronismo primario no diagnosticado en hipertensos catalogados como esenciales. *Rev Méd Chile* 1999; 127: 800-6.
 11. CORTÉS P, FARDELLA C, OESTREICHER E, GAC H, MOSSO L, SOTO J ET AL. Evidencias de exceso de mineralocorticoides en hipertensos esenciales: enfoque clínico-diagnóstico. *Rev Méd Chile* 2000; 128: 955-61.
 12. MOSSO L, CARVAJAL C, GONZÁLEZ A, BARRAZA A, ÁVILA F, MONTERO J ET AL. Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension* 2003; 42: 161-5.
 13. MONTERO J, SOTO J, FARDELLA C, FORADORI A, VALDÉS G. Medición de la actividad renina plasmática: optimización del método. *Rev Méd Chile* 1998; 126: 151-4.
 14. FARDELLA C, MONTERO J, MOSSO L. Hipertensión arterial y mineralocorticoides: utilidad de las mediciones de renina y aldosterona. *Rev Méd Chile* 1999; 127: 604-10.
 15. FARDELLA C, MOSSO L. Primary aldosteronism. *Clin Lab* 2002; 48: 181-90.
 16. WHITE P, MUNE T, AGARWAL A. 11(HSD and the syndrome of apparent mineralocorticoid excess. *Endocrine Reviews* 1997; 18: 135-56.
 17. WILSON RC, NIMKARN S, NEW MI. Apparent mineralocorticoid excess. *Trends Endocrinol Metab* 2001; 12: 104-11.
 18. MULATERO P, RABBIA F, MILAN A, PAGLIERI C, MORELLO F, CHIANDUSSI L ET AL. Drug effects on aldosterone/plasma rennin activity ratio in primary aldosteronism. *Hypertension* 2000; 40: 897-902.
 19. SEIFARTH C, TRENKEL S, SCHOBEL H, HAHN EG, HENSEN J. Influence of antihypertensive medication on aldosterone and renin concentration in the differential diagnosis of essential hypertension and primary aldosteronism. *Clin Endocrinol* 2002; 57: 457-65.
 20. MENARD J, CORVOL P. Mesure l'activite rénine plasmatique de l'homme par le dosage radioimmunologique de l'angiotensine I. *Tech. Radioimmunol* 1972, Paris, Inserm 459.
 21. HERVEY GR. Determination of creatinine by the Jaffe reaction. *Nature* 1953; 171: 1125.
 22. FUNDER JW, PEARCE PT, SMITH R, SMITH AI. Mineralocorticoid action target tissue specificity is enzyme, not receptor mediated. *Science* 1988; 242: 583-5.
 23. LICHTFIELD WR, HUNT SC, JEUNEMAÎTRE X, FISHER ND, HOPKINS PN, WILLIAMS GH. Increased urinary free cortisol: a potential intermediate phenotype of essential hypertension. *Hypertension* 1998; 31: 569-74.
 24. SHAMIM W, YOUSUFUDDIN M, FRANCIS DP, GUALDIERO P, HONOUR JW, ANKER SD, ET AL. Raised urinary glucocorticoid and adrenal androgen precursors in the urine of young hypertensive patients: possible evidence for partial glucocorticoid resistance. *Heart* 2001; 86: 139-44.
 25. CHROUSOS GP, VINGERHOEDS ACM, BRANDON D. Primary cortisol resistance in man. A glucocorticoid receptor mediated disease. *J Clin Invest* 1982; 69: 1261-9.
 26. GÓMEZ-SÁNCHEZ CE, GÓMEZ-SÁNCHEZ EP, HOLLAND EB. Role of 18-hydroxylated cortisol in hypertension. *J Steroid Biochem* 1987; 27: 971-5.
 27. REINCKE M. Subclinical Cushing's syndrome. *Endocr Metab Clin North America* 2000; 29: 43-56.
 28. KLOOS RT, GROSS MD, FRANCIS IR, KOROBKIN M, SHAPIRO B. Incidentally discovered adrenal masses. *Endocrin Rev* 1995; 16: 460-84.
 29. CHROUSOS GP, DETERA-WADLEIGH DM, KARL M. Syndromes of Glucocorticoid resistance. *Ann Intern Med* 1993; 119: 1113-24.
 30. LAMBERTS SWJ, POLDERMAN D, ZWEEENS M, DE JONG FH. Familial cortisol resistance: differential diagnostic and therapeutic aspects. *J Clin Endocrin Metab* 1986; 63: 1328-33.
 31. MULATERO P, PANARELLI M, SCHIAVONE D, ROSSI A, MENGIOZZI G, KENYON CJ ET AL. Impaired cortisol binding to glucocorticoid receptors in hypertensive patients. *Hypertension* 1997; 30: 1274-8.

Agradecimientos

Queremos agradecer a la Srta. Doris Haack, del Departamento de Farmacología de la Universidad de Heidelberg, por facilitarnos el anticuerpo anti-cortisol para el radioinmunoensayo.