

Modificaciones en la actividad de renina plasmática y aldosterona provocadas por una pauta de administración creciente de sulfato de cinc en individuos normotensos

M. Calero, A. Sampalo, J.E. Millán, J. Freire*, A. Senra y E. Zamora

Departamento de Medicina Interna. Facultad de Medicina. Universidad de Cádiz.
Servicio de Medicina Nuclear. Hospital de Cádiz

Se estudia el comportamiento del sistema renina-angiotensina-aldosterona en relación con un sobreaporte progresivamente creciente de un oligoelemento, el cinc, capaz de modificar la actividad de la enzima conversiva de la angiotensina I (ECA). Seis individuos voluntarios sanos y normotensos recibieron 300 mg de sulfato de cinc por vía oral durante 4 días y 600 mg durante otros 4 días más. En los días primero, quinto y noveno se determinaron la actividad de renina plasmática (ARP) y aldosterona séricas y se valoraron las posibles modificaciones de la tensión arterial. La ARP y la aldosterona mostraron incrementos estadísticamente significativos y escalonados en el transcurso de la sobrecarga. La ARP fue al primer día de $0,40 \pm 0,08 \text{ ng.ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, al quinto día de $0,80 \pm 0,21 \text{ ng.ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ y al noveno día de $1,39 \pm 0,34 \text{ ng.ml}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ (primer-quinto día: $p < 0,05$; primer-noveno día: $p < 0,02$); los valores de aldosterona fueron, al primer día, de $81 \pm 17 \text{ pg/ml}$, al quinto día de $119 \pm 26 \text{ pg/ml}$ y al noveno día de $164 \pm 30 \text{ pg/ml}$ (primer-quinto día: diferencias no significativas; primer-noveno día: $p < 0,02$). Los valores de tensión arterial no se modificaron significativamente por el sobreaporte. Se concluye que un sobreaporte de cinc es capaz de modificar los valores de ARP y aldosterona, y que estas modificaciones guardan una relación dosis-respuesta.

Changes in plasma renin activity and aldosterone induced by progressively increasing zinc sulphate administration in normotensive individuals

The behavior of the renin-angiotensin-aldosterone system was evaluated in response to an increasing zinc intake. This oligoelement can modify the activity of the angiotensin I converting enzyme (ACE). Six healthy normotensive volunteers received 30 mg of zinc sulphate orally for 4 days and 600 mg for 4 additional days. On the first, fifth and ninth days plasma renin activity (PRA) and serum aldosterone were measured, and the possible changes in blood pressure were evaluated. PRA and aldosterone showed significant increases, with a stepwise distribution throughout the zinc overload. On the first day, PRA was $0.40 \pm 0.08 \text{ ng/ml/h}$; on the fifth day it was $0.80 \pm 0.21 \text{ ng/ml/h}$, and on the ninth day $1.39 \pm 0.34 \text{ ng/ml/h}$ (1st-5th day: $p < 0.05$; 1st-9th day: $p < 0.02$). On the first day, the aldosterone levels were $81 \pm 17 \text{ pg/ml}$, on the fifth day they were $119 \pm 26 \text{ pg/ml}$, and on the ninth day $164 \pm 30 \text{ pg/ml}$ (1st-5th day: nonsignificant difference; 1st-9th day: $p < 0.02$). The values of arterial pressure did not change significantly after zinc overload. It is concluded that zinc overload can modify PRA and aldosterone levels, and that these changes are dose-related.

Med Clin (Barc) 1989; 92: 729-732

Correspondencia: Dr. J.E. Millán. Departamento de Medicina Interna. Policlínico. Facultad de Medicina. 11002 Cádiz

Manuscrito aceptado el 3-1-1989

Soffer et al¹, en un excelente estudio sobre la bioquímica y la fisiología de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA) identificaron la presencia de cinc (Zn) en el centro activo de la misma¹. La enzima conversiva de la angiotensina está constituida por una única cadena glucopeptídica larga y un equivalente molar de cinc estrechamente ligado a la misma y necesario para su actividad catalítica². La ECA, cuya acción se desarrolla prioritariamente en el endotelio vascular pulmonar³, cataliza la transformación de angiotensina I en angiotensina II⁴, función con la que contribuye al equilibrio del sistema renina-angiotensina-aldosterona.

Actualmente asistimos a un interés creciente por el papel de los cationes divalentes en la fisiopatología de la tensión arterial; algunos, como el calcio y el magnesio^{5,6}, parecen desempeñar un papel definido; otros metales como el cadmio, el plomo, el manganeso e, incluso el cinc, también podrían estar implicados, pero queda por establecer su significación fisiopatológica^{7,8}. Por otra parte, existen datos que apoyan la existencia de una alteración en el metabolismo del cinc asociada a la hipertensión arterial esencial; a este respecto, es conocida la elevación del Zn intraeritrocitario en la hipertensión humana⁹ y experimental¹⁰ y el incremento en la eliminación urinaria de cinc en pacientes hipertensos¹¹.

Considerando que la ECA es activada por el Zn¹² y que los valores plasmáticos de este metal son determinantes de la actividad de la enzima¹³, nosotros hemos podido comprobar¹⁴ cómo una sobrecarga de 300 mg de sulfato de cinc al día durante 4 días se acompaña de una elevación significativa de los valores de actividad de renina plasmática en individuos normotensos, así como de una elevación de las concentraciones séricas de aldosterona. Datos procedentes de la experimentación animal¹³ demuestran que, tras una situación de privación, distintas concentraciones de cinc modifican también en distinto grado la actividad de la ECA. Sin embargo, estos estudios no

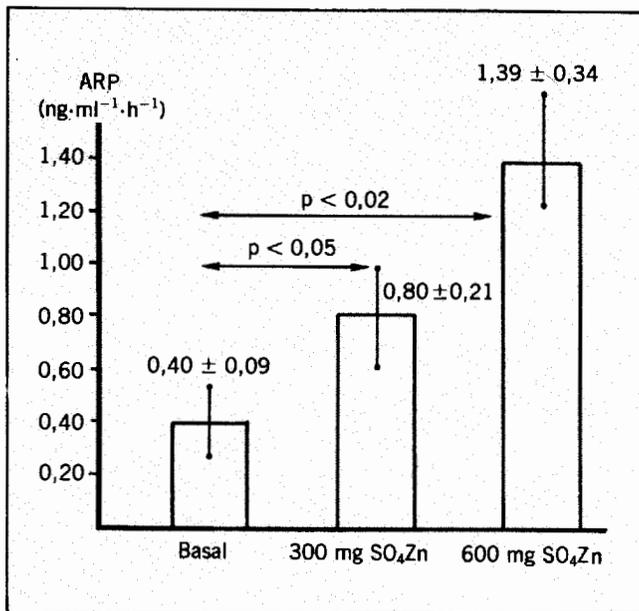


Fig. 1. Actividad de renina plasmática (ARP) tras administrar dosis crecientes de sulfato de cinc por vía oral en individuos normotensos. La determinación se realiza el primer día (basal), al quinto día (tras 300 mg/día de SO₄Zn durante 4 días) y al noveno día (tras 600 mg. día de SO₄Zn durante 4 días más).

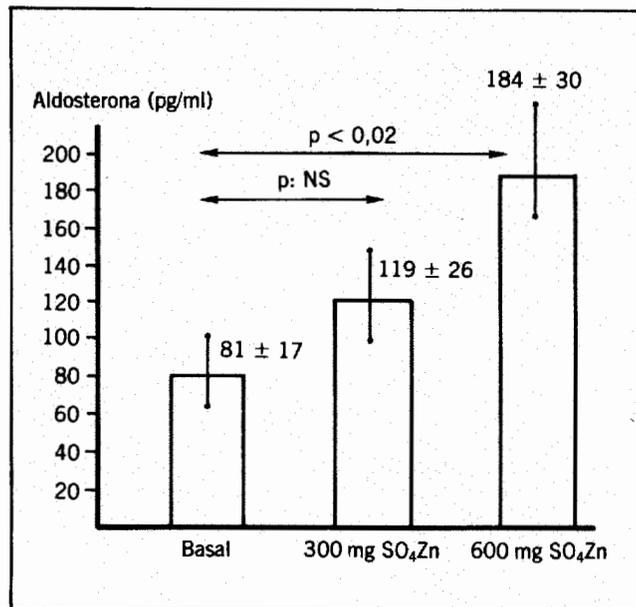


Fig. 2. Concentraciones de aldosterona tras administrar dosis crecientes de sulfato de cinc por vía oral en individuos normotensos. La determinación se realiza el primer día (basal), al quinto día (tras 300 mg/día de SO₄Zn durante 4 días) y al noveno día (tras 600 mg/día de SO₄Zn durante 4 días más).

han logrado aclarar suficientemente cuál es el modelo de cinética enzimática implicado en los cambios de actividad de la ECA que están condicionados por las diferentes concentraciones de Zn. A ello pretendemos aproximarnos con este estudio, cuyo objetivo es conocer las modificaciones del sistema renina-angiotensina-aldosterona inducidas por la administración de sulfato de cinc y si estas modificaciones guardan una relación dosis-respuesta. Subsidiariamente, pretendemos conocer si las posibles modificaciones inducidas podrían asemejar la situación resultante a algunos patrones hormonales observados en determinadas formas de hipertensión arterial esencial¹⁵

Material y método

Hemos estudiado seis individuos varones, sanos y normotensos, con edades comprendidas entre los 22 y los 26 años, que aceptaron voluntariamente ser incluidos en un estudio consistente en la administración oral de dosis crecientes de sulfato de cinc. La pauta se inició con 300 mg diarios fraccionados en tres tomas; esta dosificación se mantuvo durante 4 días, al cabo de los cuales se aumentó la dosis a 600 mg diarios, en tres tomas de 200 mg cada una, durante 4 días más. El sulfato de cinc se vehiculizó en forma de cápsulas de gelatina, cada una de las cuales contenía 100 mg de SO₄Zn y 200 mg de lactosa como excipiente; se calculó un contenido de 22 mg de Zn elemental por cápsula.

En los días primeros (basal), quinto (tras la administración de 300 mg de SO₄Zn durante 4 días) y noveno (con 4 días más tomando 600 mg/día de SO₄Zn) se tomaron muestras de sangre para determinación de Zn y aldosterona séricos y actividad de renina plasmática (ARP) y se midieron las cifras de tensión arterial. En las tres ocasiones de recogida de las muestras, los voluntarios acudieron al policlínico a las 9 h de la mañana, en ayunas y tras 7-8 h de reposo nocturno. Permanecieron 30 minutos en decúbito y a

continuación se realizaron dos determinaciones de tensión arterial con esfigmomanómetro de mercurio y con un intervalo de 5 minutos, tomada en el brazo derecho; se utilizó el mismo aparato en todas las determinaciones. Finalmente, se procedió a la extracción de 15 ml de sangre venosa con jeringuillas previamente refrigeradas. La manipulación de sueros destinados a la medición de Zn se realizó según procedimiento estándar¹⁶ para evitar la contaminación e interferencias iónicas. El Zn sérico se midió con un espectrofotómetro de absorción atómica (Perkin Elmer mod. 3030) según el método de Kelson y Chamberger¹⁷, los resultados se expresaron en µg/dl. La actividad de renina plasmática se determinó por radioinmunoanálisis¹⁸ con un límite inferior de detección de 0,1 ng·ml⁻¹·h⁻¹ de angiotensina I y un coeficiente de variación intraensayo del 8 %. La aldosterona se determinó igualmente por RIA¹⁹, con una precisión interanálisis del 10 %; los resultados se expresaron en pg/ml. Para ambas determinaciones se utilizaron equipos comerciales de RIA en fase sólida (Sorin Biomédica).

Con objeto de descartar posibles modificaciones en el balance iónico, se midieron las cifras de sodio y potasio, en sangre y orina de 24 horas, antes (primer día) y después (quinto día) de la sobrecarga. Las determinaciones se realizaron según la técnica habitual de nuestro laboratorio.

Los valores encontrados en las distintas determinaciones y en los distintos momentos de la sobrecarga se compararon mediante la prueba de la t de Student para variables cuantitativas; se consideraron como parámetros a comparar las cifras medias y desviación estándar de cada serie de valores.

Resultados

La actividad de renina plasmática (PRA) se elevó progresivamente desde una situación basal de 0,40 ± 0,09 ng·ml⁻¹·h⁻¹, a un valor intermedio de 0,80 ± 0,21 ng·ml⁻¹·h⁻¹ tras la administración de 300 mg/día de sulfato de cinc durante 4 días y a un valor final de 1,39 ± 0,34 ng·ml⁻¹·h⁻¹ cuando se administraron 600 mg/día durante los 4 días posteriores. La significación estadística de las diferencias en-

tre los valores basales y los obtenidos en el punto medio y final de la sobrecarga estuvo en el nivel de p < 0,05 y p < 0,02, respectivamente (fig. 1).

Las concentraciones séricas de aldosterona mostraron también una elevación creciente y escalonada en cada momento de la sobrecarga (fig. 2), desde un valor basal de 81,16 ± 17,62 pg/ml, a un valor medio de 119,5 ± 26,5 pg/ml (quinto día) y uno final de 184,83 ± 30,85 pg/ml (noveno día). La diferencia entre la concentración basal y la obtenida en el punto medio de la sobrecarga no resultó estadísticamente significativa, pero sí lo fue respecto a la concentración final (p < 0,02).

La tensión arterial no experimentó variaciones significativas en el transcurso de esta pauta de dosificación creciente de sulfato de cinc (fig. 3). La efectividad de la sobrecarga se confirmó por una elevación significativa de las concentraciones séricas de Zn, incluso con la dosis inicial de 300 mg/día (desde 107 ± 4 µg/dl a 131 ± 4 µg/dl; p < 0,01).

La valoración de las cifras de sodio y potasio, séricos y en orina de 24 horas, puso de manifiesto que no se habían producido modificaciones significativas de estos iones. Así, los valores medios, antes y después de la sobrecarga, fueron: en sangre, Na 38 ± 1,4 mEq/l (primer día) y 136 ± 2,2 mEq/l (quinto día), K 4,06 ± 0,4 mEq/l (primer día) y 4,3 ± 0,5 mEq/l (quinto día); en orina de 24 h, Na 159 ± 14 mEq (primer día) y 152 ± 27 mEq (quinto día), K 43 ± 9 mEq (primer día) y 49 ± 12 mEq (quinto día).

Discusión

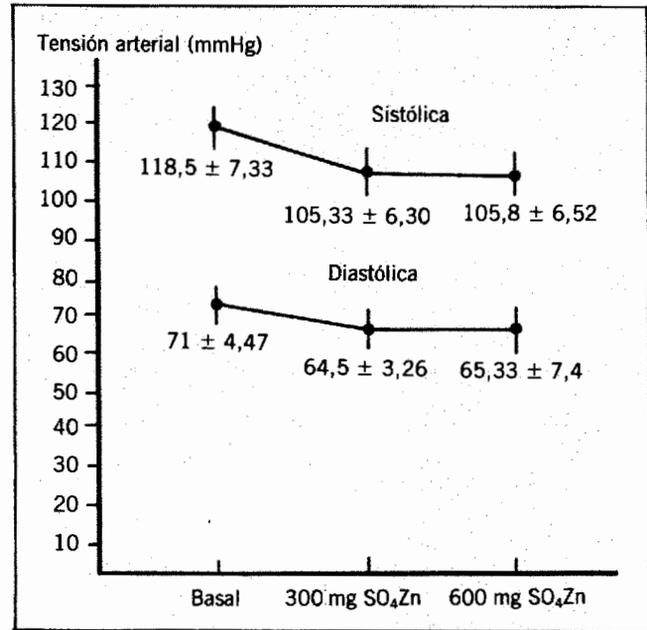
Nuestros resultados demuestran la elevación de los valores de aldosterona y ARP en individuos normotensos sometidos a un sobreaporte exógeno de Zn. Este hecho, que ya ha sido descrito previamente¹⁴, parece ser dependiente de la dosis. Nuestros hallazgos parecen estar en relación con un aumento de la actividad de la ECA provocada por la administración de cinc, efecto que ha sido experimentalmente demostrado por algunos autores^{13,20}. De igual manera, una reducción de la actividad de la ECA se acompaña de una disminución de las concentraciones séricas de Zn, hecho que ha sido posible demostrar a partir de la utilización terapéutica de los fármacos inhibidores de la ECA en la hipertensión (hipocinquemia inducida por captopril)²¹.

La elevación de la aldosterona secundaria a la administración de cinc podría deberse, por tanto, al aumento de la actividad de la ECA con el consiguiente efecto estimulador sobre el sistema de formación de angiotensina II²². La elevación de la ARP podría ser, sin embargo, una consecuencia previa, debida a un estímulo directo del Zn sobre el sistema; en efecto, el incremento en la ARP podría interpretarse como la consecuencia de una hiperestimulación adrenérgica, dado que el Zn se comporta como inhibidor de la diesterasa²³ y, por consiguiente, aumenta la concentración intracelular de adenosinmonofosfato (AMP) cíclico (segundo mensajero en la respuesta adrenérgica). No obstante, a este aumento de la ARP también podría colaborar un mecanismo de retroalimentación debido al descenso inevitable de angiotensina I, que es el sustrato de la reacción catalizada por la ECA (cuya actividad estaría elevada) y es, por otra parte, el producto final de la acción proteolítica de la renina²⁴.

Diversos factores son capaces de activar la ECA^{25,26}, entre ellos el Zn; sin embargo, no se debe olvidar que estudiamos individuos sanos y normotensos, en los que cualquier situación de desequilibrio que se pueda provocar se debe compensar inmediatamente por la puesta en marcha de mecanismos de regulación y contrarregulación, que han sido suficientemente descritos en el sistema renina-angiotensina-aldosterona^{22,27}. La ausencia de modificaciones de la tensión arterial durante la sobrecarga confirma este razonamiento.

Por otra parte, si contemplamos la hipertensión arterial como el resultado del agotamiento de mecanismos fisiopatológicos compensadores mantenidos durante largo tiempo²⁸, una pauta breve de sobrecarga de cinc no podría ser suficiente para inducir una hipertensión. Por el contrario, sería precisa una situación crónica

Fig. 3. Cifras de tensión arterial tras administrar dosis crecientes de sulfato de cinc por vía oral en individuos normotensos. Las mediciones se llevaron a cabo el primer día (basal) al quinto día (tras 300 mg/día de SO_4Zn durante 4 días) y el noveno día (tras 600 mg/día de SO_4Zn durante 4 días más).



de hipercinquemia, que en la práctica requeriría un modelo experimental. Por este motivo, si bien la hipertensión arterial esencial se acompaña de trastornos en el recambio de cinc (hipercinquemia e hipercincuria)⁹⁻¹¹, es razonable pensar que estos trastornos deben generarse a largo plazo.

En lo que se refiere al patrón de cinética enzimática atípica que presenta la enzima conversiva, Reeves y Odell¹³ observaron que elevadas concentraciones del sustrato de la enzima o de su cofactor, el cinc, pueden inhibir la acción catalítica propia de la ECA. Así, mientras que concentraciones progresivamente crecientes de Zn aumentan proporcionalmente la actividad de la ECA (cinética de primer orden), cuando se llega a cierto nivel, la actividad de la enzima se hace constante e independiente de la concentración de cinc (cinética de orden cero), e incluso, concentraciones muy elevadas del sustrato y/o del cofactor (Zn) pueden resultar inhibitorias de la actividad enzimática; este peculiar comportamiento lo presentan algunas enzimas denominadas homotrópicas, y nuestras observaciones en hipertensos parecen apoyar este tipo de cinética²⁹.

Otras vías alternativas podrían implicar al cinc en la homeostasis de la presión arterial, tales como su acción sobre la anhidrasa carbónica³⁰, enzima que retiene agua a nivel del túbulo proximal y cuyos inhibidores se emplean en el tratamiento de la hipertensión, o su participación en la cininasa II, que cataliza la degradación de cininas vasodilatadoras a péptidos inactivos³¹.

Con los datos de que disponemos en la actualidad, podemos concluir que el cinc provoca cambios en el sistema renina-an-

giotensina-aldosterona, muy probablemente mediados por su influencia en la actividad de la ECA, y que parecen estar en relación con la concentración de este ion.

BIBLIOGRAFÍA

- Soffer RL, Reza R, Cadwell PRB. Angiotensin converting enzyme from rabbit pulmonary particles. Proc Natl Acad Sci USA 1974; 71: 1.720.
- Laragh J, Soffer RL, Case DB. Enzima de conversión, angiotensina II y enfermedad hipertensiva. Am J Med (ed esp) 1978; 7: 59-71.
- Ng KKF, Vane JR. Conversion of angiotensin I to angiotensin II. Nature 1967; 216: 762-766.
- Bakhtie YS. Conversion of angiotensin I to angiotensin II by cell-free extracts of dog lung. Nature 1968; 220: 919-920.
- Carronda MC. Calcium and magnesium nutrition in human hypertension. Ann Intern Med 1983; 98 (2): 800-805.
- Cuesta V. Drogas que inducen hipertensión arterial. Hipertensión 1985; 2: 381-386.
- Bartolin R, bouvenot G, Arnaud C. Cadmium sanguin et zinc plasmatique chez l'hypertendu, a propos de 76 observations. Rev Med Intern 1985; 6: 280-284.
- Medeiros DM, Pellum LK. Blood pressure and hair cadmium, lead, copper, and zinc concentrations in Mississippi adolescents. Bull Environ Contam Toxicol 1985; 34: 163-169.
- Frithz G, Ronquist G. Increased red cell content of zinc in essential hypertension. Acta Med Scand 1979; 205: 647-649.
- Henrotte JG, Santarromana M, Bourdon R. Concentrations de magnésium, calcium et zinc du plasma et des érythrocytes de rats spontanément hypertendus. C R Acad Sci Paris 1985; 300: 431-436.
- García Zozaya JL, Padilla Viloria M, Castro A. Urinary excretion of zinc in patients with essential arterial hypertension. Res Commun Chem Pathol Pharmacol 1985; 48: 445-454.
- Cushman DW, Cheung HS. Spectrophotometric assay and properties of angiotensin converting enzyme of rabbit lung. Biochem Pharmacol 1971; 20: 1.637-1.648.
- Reeves PG, Odell BL. An experimental study of the effect of zinc on the activity of angiotensin converting enzyme in serum. Clin Chem 1985; 31: 581-584.
- Calero M, Sampalo A, Millán J et al. Variación en la actividad de renina plasmática y aldosterona in-

- ducidas por la administración de sulfato de zinc en individuos normotensos. Reunión Nacional de la Sociedad Española de Endocrinología. Granada, 1987.
15. Laragh H, Baer L, Brunner R, Buhler FR, Sealey JE, Vaughan ED. Renin angiotensin and aldosterone system in pathogenesis and management of hypertensive vascular disease. *Am J Med* 1975; 52: 633-652.
 16. Rosner F, Gorfien PC. Erythrocyte and plasma zinc and magnesium levels in health and disease. *J Lab Clin Med* 1968; 72: 213-219.
 17. Kelson J, Chamberger R. Comparative methods for serum zinc determination by atomic-absorption spectrophotometric. *Clin Chem* 1978; 24: 240-244.
 18. Malvano R. Measurement of plasma renin activity by angiotensin I immunoassay, an assesment of some methodological aspects. *J Nucl Biol Med* 1972; 16: 24.
 19. Malvano R. Recent trends in methodological simplification of steroid radioimmunoassay. *Horm Res* 1978; 9: 422.
 20. White CL, Jacob I, Dahleim H, Pschorr J. Biochemical and physiological implications of a reduced plasma angiotensin I converting enzyme activity in zinc deficient rats. Fifth International Symposium on trace elements in man and animals. Abstract 8. 1984.
 21. Zumkley H, Bertram HP, Vetter H, Zidek W, Losse H. Zinc metabolism during treatment with captopril. *Horm Metab Res* 1985; 17: 256-258.
 22. Castellet Mata R. Sistema renina-angiotensina-aldosterona. *Endocrinología* 1985; 32: 194-201.
 23. Chvapil M. New aspects in the biological role of zinc: a stabilizer of macromolecules and biological membranes. *Life Sci* 1973; 13: 1.041.
 24. Skeggs LT, Dorer FE, Khan JR, Lentz KE, Levine M. The biochemistry of renin-angiotensin system and its role in hypertension. *Am J Med* 1976; 66: 737-748.
 25. Niarchos AP, Resnick LM, Weinstein DL, Laragh JH. Angiotensin I converting enzyme activity in hypertension. Relationship to blood pressure, renin-sodium profiles and hypertensive therapy. *Am J Med* 1985; 79: 435-444.
 26. Lieberman J, Nosal A, Schlessner LA, Sastre-Foken A. Serum angiotensin converting enzyme for diagnosis and therapeutic evaluation of sarcoidosis. *Am Rev Respin Dis* 1979; 120: 329-335.
 27. Oparil S, Haber E. The renin-angiotensin system. *N Engl J Med* 1974; 291: 389-401.
 28. Rodicio JL, Romero JC. Tratado de hipertensión, 1ª ed. Barcelona Salvat Ed, 1986; 31-66.
 29. Calero M, Sampalo A, Millan J, Freire J, Zamora E, Senra A. Cambios inducidos por el sulfato de zinc en el sistema renina-angiotensina-aldosterona de pacientes hipertensos esenciales. IX Reunión Nacional de la Liga Esp. contra la Hipertensión. Salamanca, 1987.
 30. Wooley P. Models for metal ion function in carbonic anhydrase. *Nature* 1975; 258: 677-681.
 31. Orstavick TB. The kallikrein-kinin system in exocrine organs. *J Histochem Cytochem* 1980; 28: 881-887.