Maestría en Medicina Vascular

Universidad Católica de Córdoba
FUCCADIM

Trabajo Monográfico

Tema:

"Función Endotelial: Evaluación con Eco Doppler"

Autor:

Dr. Adrián H. D'Ovidio

Médico Cardiólogo
MN 63.227 MP 1.704
ahdovidio@interredes.com.ar
ahdovidio@gmail.com
ahdovidio@fac.org.ar

Servicio de Cardiología Hospital Rawson
Provincia de San Juan
República Argentina

San Juan, Diciembre de 2008

Introducción:

La arterioesclerosis es una enfermedad sistémica, crónica y difusa con complicaciones focales en diferentes lechos vasculares que pueden conducir a enfermedad arterial coronaria, periférica y cerebrovascular. El hecho de que todos los estados de la arterioesclerosis pueden producirse en territorios distantes y en localizaciones múltiples simultáneamente y al mismo tiempo dan fuerza a la hipótesis de que la interacción e interfase dentro de la pared arterial y la circulación es el sitio primario del mecanismo subyacente de los eventos cardiovasculares 1,[8,9].

El endotelio, considerado durante mucho tiempo tras el trabajo pionero de Furchgott y Zawadzki[11] como una capa inerte de células que revisten el interior de los vasos sanguíneos, es en la actualidad una de las estructuras más estudiada, tras el cambio de paradigma“

- ***Paradigma Clásico:*** “El endotelio es la capa más interna de células de los vasos sanguíneos, en contacto con la sangre, constituyendo una barrera semipermeable entre la sangre y el intersticio, facilitando el intercambio de agua y moléculas pequeñas”

- ***Paradigma Actual:*** “Una serie de estudios experimentales han demostrado que el endotelio tiene un rango enorme de funciones homeostáticas vitales. En vez de servir como un barrera inerte, el endotelio es una barrera antitrombótica que además tiene funciones metabólicas, sintéticas y de regulación del tono vascular”

- El endotelio vascular es un gran órgano con funciones endócrinas, parácrinas y autócrinas, que secreta numerosas sustancias que regulan el tono vascular, el crecimiento celular, las interacciones entre leucocitos y plaquetas y la trombogénesis [1-4].

El endotelio sensa y responde a una gran cantidad de estímulos internos y externos a través de complejos de receptores de membrana y mecanismos de traducción de señales, llevando a la síntesis y liberación de varias sustancias vasoactivas, tromboregulatorias y regulatorias del crecimiento vascular. Desempeña una función clave en la regulación del tono vascular, trombogenicidad, proliferación de células musculares , adhesión y agregación plaquetaria[12]. Como se ha comentado la disfunción endotelial es uno de los pasos iniciales en el desarrollo de la arterioesclerosis y está directamente asociada a un aumento de patología cardíaca, cerebrovascular y arteriopatía periférica[13].

Se ha demostrado por completo que la disfunción endotelial es un factor clave en el desarrollo de la arterioesclerosis, hipertensión arterial, hipertensión arterial pulmonar e insuficiencia cardíaca.

Es clave la integridad funcional del endotelio para cumplir adecuadamente sus múltiples funciones como mantenimiento del flujo sanguíneo, antitrombóticas, antiaterogénicas, vasodilatadoras, vasoconstrictoras, inhibición plaquetaria, etc. El endotelio contribuye al control de la tensión arterial, la permeabilidad vascular y el mantenimiento del flujo sanguíneo. La presencia de factores de riesgo como el tabaquismo, la dislipemia, la hipertensión arterial, diabetes, el sedentarismo, contribuyen a que el endotelio sea disfuncionante, favoreciendo entonces la liberación de sustancias vasoconstrictoras, proagregantes plaquetarias, factores proinflamatorios, factores pro-migración de monocitos, arterioesclerosis por mayor oxidación de LDL, factores procoagulantes, antiagregantes plaquetarios, etc. (ver fig. 1 y 2)

El interés reciente y creciente de estudiar la caracterización funcional del endotelio resulta de tres descubrimientos interrelacionados.

1. Las anormalidades en la función endotelial se asocian a algunos de los principales factores de riesgo cardiovascular y pueden pronosticar el desarrollo de enfermedades vasculares clínicas.

2. Varios ensayos de intervención en los últimos años han logrado documentar que la disfunción endotelial puede mejorar con intervenciones no farmacológicas (dieta hipograsa, no fumar, ejercicio físico aeróbico) y farmacológicas (IECA, estatinas).

3. Disponemos en la actualidad de varios estudios para evaluar la función endotelial:

- ***Coronariografía*** para evaluar la respuesta de los vasos a la acetilcolina intracoronaria (ver fig. 4), la que produce vasodilatación en condiciones de endotelio normofuncionante y vasoconstricción si el endotelio disfunciona.
- ***Pletismografía*** venosa del brazo (evalúa el aumento del flujo sanguíneo después de inyectar acetilcolina y
- ***Ultrasonografía*** dúplex arterial (de arteria braquial, o estudio de vasodilatación mediada por flujo con Eco 2D, motivo de esta revisión. Conocido como vasodilatación mediada por flujo (VDMF).

A partir de trabajos pioneros como los de Laurent y cols[5], Anderson y cols.[6] y Celermajer[7], se desarrolló una técnica no invasiva para evaluar la función endotelial a través del concepto de la vasodilatación mediada por el flujo (VDMF), una función endotelio-dependiente, en la arteria braquial (humeral). Este estímulo provoca en condiciones normales la liberación de óxido nítrico, un potentísimo vasodilatador que produce vasodilatación inmediata que puede ser vista y cuantificada con ecografía 2D.

Material y Métodos

Se efectuó una revisión bibliográfica que incluyó:

- Libros de texto tanto propios como hallados en bibliotecas.
- Artículos originales buscados por Internet, utilizando bases de datos como PubMed, Medline, Cochrane, Science Direct y Red Informática de Medicina de Avanzada (RIMA), seleccionando aquellos de los que se pudo conseguir texto completo.

Resultados

Fisiología del Endotelio

Las arterias tienen una estructura tri-laminar bien desarrollada: la íntima, la media y la adventicia

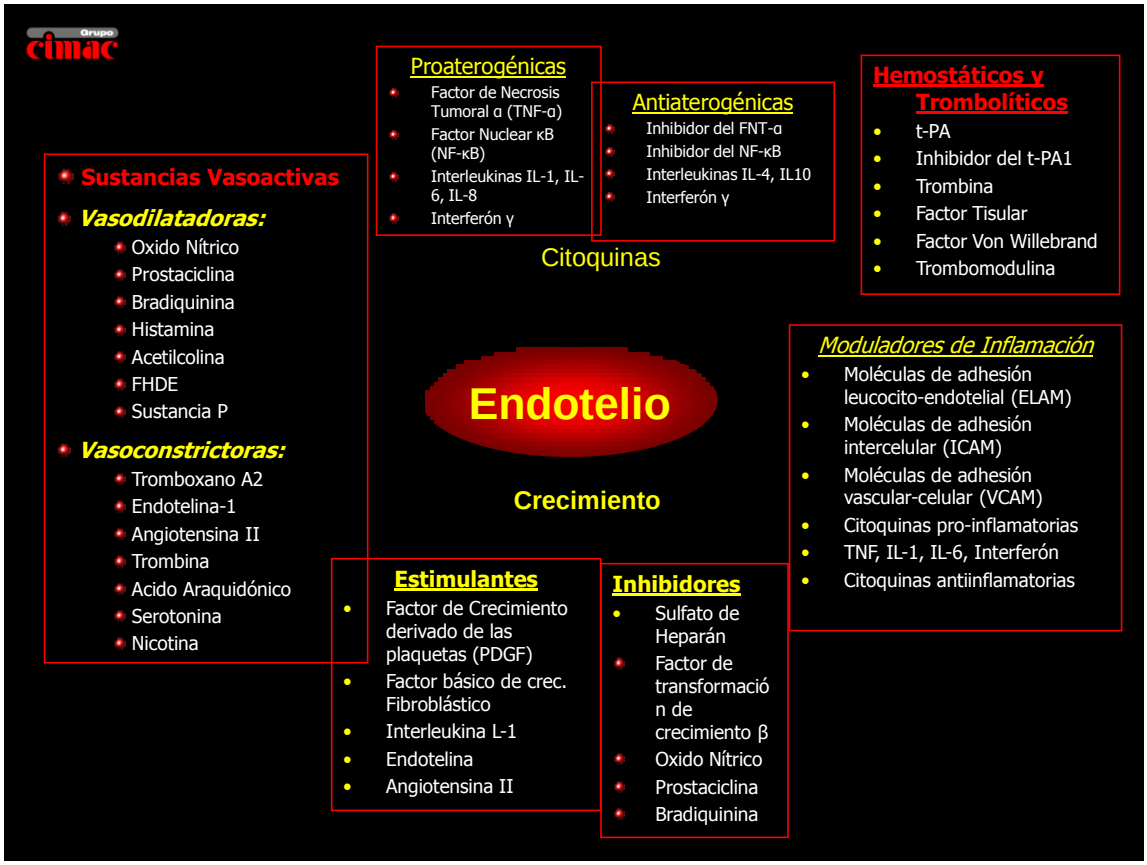
En el pasado la atención se focalizó en la capa de células endoteliales de los grandes vasos de conductancia y del lecho vascular. Sin embargo, el lecho vascular se

extiende dentro de la pared arterial y la capa adventicia y los vasa vasorum, que se considera una microcirculación intravascular activa y también posee endotelio. Por lo tanto, el concepto de función endotelial debe ser extendido a la pared arterial misma y a la adventicia.[8-10]

El endotelio es un órgano clave, que extendido ocupar aproximadamente el espacio de seis canchas de tenis y pesa aproximadamente 1.7 kg.

La célula endotelial de la íntima arterial constituye la superficie de contacto crucial con la sangre y funciona como una estructura receptora-efectora, que sensa diferentes estímulos químicos o físicos que ocurren dentro del vaso modificando acordemente la forma del vaso o libera los productos necesarios para contrarrestar el efecto de estímulos nocivos y mantener así la homeostasis. Produce sustancias agonistas y antagonistas, pudiendo por lo tanto balancear sus efectos en dos direcciones opuestas.. Produce sustancias vasodilatadoras y vasoconstrictoras, pro y anticoagulantes, inflamatorias y antiinflamatorias, fibrinolíticas y antifibrinolíticas, oxidantes y antioxidantes y muchas otras[14-17], las que se detallan abajo: y ver fig. 1.

Cuando el endotelio pierde la capacidad para mantener el balance adecuado entre las fuerzas descriptas (fig. 3), queda expuesto al ingreso de lípidos y leucocitos, la oxidación de las LDL, la migración de monocitos, la inflamación, la formación de células grasas, iniciando el proceso arterioesclerótico con la formación de ateromas y si el proceso persiste, la formación de trombosis, accidentes de placa y cuadros vasculares agudos, centrales o periféricos[16].



Resumiendo:

Funciones del Endotelio Normal

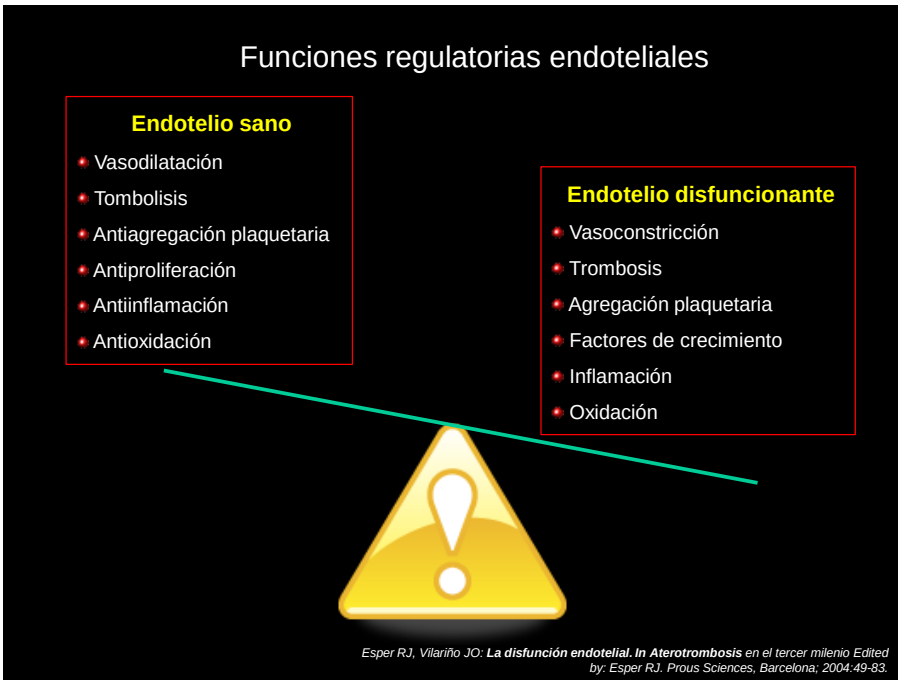
1. Mantener el tono y la estructura vascular.
2. Regular el crecimiento de las células vasculares.
3. Regular las propiedades trombóticas y trombolíticas.
4. Intervenir en los mecanismos inflamatorios e inmunes.
5. Regular la adhesión plaquetaria y leucocitaria a su superficie.
6. Modular la oxidación lipídica (actividad metabólica).
7. Regular la permeabilidad capilar

Oxido Nítrico[18]:

Oxido Nítrico

- Mediador básico de la vasodilatación
- Gas volátil de bajo PM presente en todas las células del organismo, lipofílico, difunde fácilmente a través de las membranas celulares.
- Se genera a partir de la enzima ON sintetasa.
- El principal estímulo para su liberación es la presión de rozamiento o fuerza tangencial sobre la pared del vaso (shear stress), que se genera por el aumento de flujo dentro de la arteria y que conduce a una dilatación que es directamente proporcional al ON liberado por el endotelio (vasodilatación "endotelio-dependiente").

En una magnífica revisión del tema, el Dr. Esper y cols. Detallaron las características funcionales del endotelio normofuncionante y disfuncionante[19]:



La evaluación de la función endotelial con ultrasonido es una técnica recientemente descripta, de fácil realización, basada en la respuesta de las células endoteliales al hiperflujo y shear estrés.

Básicamente, el método evalúa la respuesta endotelial a 5 minutos de isquemia provocada. La respuesta normal es la liberación de óxido nítrico que generará vasodilatación. En un primer momento se pensó que el ON se liberaba en respuesta a la

isquemia, hoy se sabe que se libera en respuesta al shear stress que genera el flujo al volver a fluir a gran velocidad una vez que se libera el vaso comprimido.

La ***técnica***, descripta claramente por Correti, Celermajer y colaboradores[4] es sencilla: (figs. 5,6,7,8,9,10 y11)

1. ***Preparación básica del paciente,***
   a. Debe estar relajado, con un reposo de cuanto menos 10 minutos antes de la prueba y en un ambiente con temperatura templada.
   b. No haber consumido cafeína,
   c. Drogas vasoactivas, deben suspenderse de ser posible considerando 5 vidas medias.
   d. No haber fumado ni realizado ejercicios en las últimas 4 a 6 horas (ver fig. 6.).
   e. No haber consumido grasas 12 hs. previas al estudio
   f. No haber consumido alimentos con vitamina C.
2. ***Equipamiento***
   a. Ecocardiógrafo 2D y Doppler color y espectral.
   b. Sonda vascular de 7 a 12 MHz.
   c. Registro ECG permanente.
   d. Tensiómetro con manguito de diámetro adecuado al brazo del paciente.
3. ***Adquisición de imágenes***
   a. Paciente en posición supina.
   b. La imagen de la arteria braquial se obtiene justo por encima de la fosa antecubital y se recoge en un plano longitudinal.
   c. Se obtiene una imagen en escala de grises donde se distingan claramente el lumen de la arteria braquial (humeral) y el complejo miointimal tanto anterior como posterior.
   d. Se coloca un manguito de los utilizados comúnmente para el control de la tensión arterial adecuado a la circunferencia del brazo del/la paciente. (también hay varios estudios que lo han colocado en el antebrazo, es mejor en el brazo puesto que el diámetro de la arteria radial puede escasamente superar los 2,5 mm en tanto que la braquial tiene generalmente casi 5 mm o a veces más, lo que permite un estudio más sencillo)[4,44,45]
   e. Se mide el diámetro de la arteria humeral en eje largo (el eje corto no es conveniente por la conocida menor resolución lateral del eco 2D) tanto con eco 2D como con eco M (fig. 7 y 8).[4,44]
4. **Vasodilatación mediada por flujo (VDMF)**
   a. Obtenido el diámetro basal se insufla el manguito controlando en el monitor del eco que el flujo cese, tanto con Doppler pulsado como con color, una vez que desapareció la señal color se hace una insuflación más (la técnica originalmente descripta dice que debe subirse 50 mmHg por encima de la Tensión arterial sistólica (esto tiene el inconveniente de generar muchas veces dolor) y se controla durante 5 minutos que no haya flujo. Esto causa isquemia y la consecuente y la caída de resistencia y dilatación de las arterias distales a la ocluida por mecanismos autorreguladores.
   b. Transcurridos los cinco minutos se desinsufla el manguito y se libera así el flujo en la arteria humeral, produciéndose

hiperemia, con flujo a gran velocidad para reacomodar el diámetro de los vasos distales de resistencia.

c. El incremento subsecuente del shear stress produce como resultado la liberación de óxido nítrico y la vasodilatación de la arteria braquial.
d. Se obtiene una imagen del vaso con eco m, Doppler color y Doppler espectral pulsado desde los 30 segundos a los dos minutos, comprobándose el aumento del flujo.
e. Al minuto se mide nuevamente el diámetro de la arteria (debe hacerse en diástole, ver más adelante).
f. La respuesta normal (endotelio normofuncionante) es que aumente cuanto menos 10%.
g. Las condiciones basales se recuperan por completo tras 10 minutos de reposo aproximadamente.
h. El estudio puede completarse con nitroglicerina sublingual.
i. Se sugiere informar diámetro absolutos de la arteria, midiendo de íntima-íntima en condiciones basales, al minuto de la desuflación, y el porcentaje de cambio tras la isquemia inducida. (fig.9)

¡Es mejor medir el diámetro del vaso en sístole o en diástole?

Este es uno de los puntos clave de esta técnica y sal respecto existe una publicación reciente de Martínez Aguilar y cols[30]. Se ha observado que el diámetro arterial en el momento del pico sistólico es mayor que el diámetro al final de la diástole, ya que el vaso se expande durante la sístole para acomodar el incremento en la presión y el volumen generado por la contracción ventricular izquierda. Se sabe que la magnitud de esta expansión está condicionada por la distensibilidad del vaso y que ésta puede verse afectada por distintos factores como la edad y la hipertensión arterial. Las guías al respecto recomiendan la medición del diámetro arterial en diástole[4,7] aunque admiten que esta hipótesis no se ha demostrado previamente. El estudio de Martínez Aguilar[30] fue el primero efectuado en esta dirección. Observaron que la VDMF en los sujetos sanos es mayor cuando se realiza la medición en diástole que en sístole, y aunque esta diferencia no llega a ser significativa en la arteria braquial (p = 0,055), sí que lo es en la arteria femoral (p = 0,02). El hecho de que estas diferencias sean prácticamente inexistentes cuando se determina la dilatación mediada por flujo en la arteria braquial o femoral en sujetos con arteriopatía periférica aboga a favor de la hipótesis de que la dilatación en sístole se ve afectada en mayor medida en estos enfermos. Por tanto, para realizar comparaciones intergrupo, deberíamos utilizar aquella medida que no estuviese sesgada por el componente de acomodación sistólico, que no va a depender tanto de la función endotelial como de la rigidez parietal. Así, la **medición en diástole** sería una medida de mayor fiabilidad[30].

Discusión

Drexler[20] definió a la disfunción endotelial como el deterioro funcional del endotelio caracterizado por vasoconstricción, vasoespasmo, mecanismos anómalos de coagulación y fibrinólisis e incremento de la proliferación celular vascular.

Ha sido descripta y demostrada una reducción significativa en la respuesta a la vasodilatación mediada por flujo en pacientes con hipercolesterolemia e hipertensión

arterial[21] diabéticos[22-25] y tabaquistas[7,26], incluso en estadios tempranos sin evidencia anatómica de aterosclerosis, y en los pacientes con enfermedad arterial periférica [7,25-29]

Además, la falta de respuesta positiva a la VDMF es un potente factor predictivo independiente de eventos cardiovasculares en pacientes con arteriopatía periférica. [25,27-30], tanto como en arterioesclerosis en general.[31-32.]

El avance en el conocimiento de la biología vascular del endotelio ha permitido el desarrollo de tests clínicos que evalúan algunas de las propiedades funcionales del endotelio normal y activado[33]. Idealmente, estos estudios deben ser seguros, fáciles de efectuar, reproducibles, estandarizados, de bajo costo y alto rendimiento diagnóstico.

No existe un test único que alcance todas las propiedades del estudio ideal, necesitándose de más de un estudio para ser más precisos en la determinación de la función endotelial[34].

En la Tabla 1 pueden observarse claramente las ventajas y desventajas de los estudios invasivos y no invasivos disponibles, y puede observarse que el estudio de la VDMF cumple con casi todas los parámetros requeridos, lo que lo transforma en un estudio muy útil efectuado con la técnica adecuada[34].

La función endotelial ha sido extensamente estudiada en los últimos años, inicialmente con acetilcolina intracoronaria (fig. 4). La respuesta normal del árbol arterial coronario a la acetilcolina es la vasodilatación, siempre y cuando el endotelio esté normofuncionante. Dicha respuesta está mediada por el endotelio. La acetilcolina endógena penetra en el endotelio por vía extraluminal a través de terminaciones nerviosas de la adventicia y produce la apertura de los canales de calcio en la membrana celular, el calcio se une a la calmodulina y se produce la estimulación de la óxido-nítrico sintetasa, que promueve la conversión de la L-arginina en óxido nítrico, que finalmente actúa sobre la musculatura lisa produciendo vasodilatación como respuesta. Cuando la acetilcolina se inyecta por vía exógena (intraluminal-intracoronaria) produce estimulación directa de liberación de óxido nítrico, pero si el endotelio se halla lesionado (disfuncionante) actúa sobre los receptores muscarínicos del músculo liso generando vasoconstricción. Naturalmente, para una evaluación de tanto valor clínico como determinar la presencia de disfunción endotelial, tan importante en la investigación de pacientes con arterioesclerosis, la mayoría de ellos en la etapa pre-clínica, esta es una metodología invasiva, peligrosa, costosa, sin real utilidad clínica.[1,35]

El estado funcional de la microvasculatura coronaria puede también ser estudiado con eco Doppler intracoronario (IVUS) midiendo el flujo sanguíneo en vasos de resistencia evaluando la respuesta a sustancias que producen vasodilatación endotelio-dependiente o endotelio-no-dependiente[1].

Se ha utilizado (ver tabla 1) también la pletismografía de oclusión venosa para medir la respuesta vasomotora de los vasos de resistencia del brazo durante la infusión de acetilcolina en la arteria braquial.[36]

El método no invasivo más útil para la detección de disfunción endotelial es el test de VDMF. Se utiliza, como se ha dicho, ultrasonido de alta resolución para medir el diámetro de la arteria braquial (humeral) en respuesta a la hiperemia reactiva que se produce tras la oclusión temporal durante 5 minutos. La hiperemia reactiva induce un significativo aumento del flujo y del “shear stress” (estrés de cizallamiento) que estimula la liberación de óxido nítrico por el endotelio que genera vasodilatación que puede determinarse midiendo nuevamente el vaso al minuto de cesar la isquemia, es la

vasodilatación mediada por flujo, que puede cuantificarse como un índice de función vasomotora. Dicho incremento de diámetro según la técnica descripta por Celermajer y cols.[1,4,26,31] debe ser igual o mayor del 10% para considerar la respuesta como normal. La naturaleza sistémica de la arterioesclerosis es reflejada por la relación tan cercana entre la disfunción endotelial evaluada incruentamente en el brazo y la evaluada directamente intracoronaria en el laboratorio de hemodinamia.[1,37]

Función endotelial y Arterioesclerosis: desde las observaciones iniciales de Ludmer y colaboradores con acetilcolina intracoronaria que demostraron una alteración en la respuesta vasodilatadora coronaria a la infusión de acetilcolina en presencia de arterioesclerosis, observando la "vasoconstricción paradójica" en pacientes con coronariopatía leve o severa, indican que la disfunción endotelial se halla en las etapas iniciales de la aterosclerosis.[35] Esto fue corroborado también con el método de vasodilatación mediada por flujo en pacientes en etapa preclínica y clínica, con factores de riesgo coronario con y sin presencia de ateromatosis coronaria significativa de las coronarias epicárdicas, sugiriendo por tanto que la disfunción endotelial a nivel de la microcirculación puede contribuir a la isquemia cuando la demanda de oxígeno está aumentada.[37,38]

La evaluación de la función endotelial en pacientes con factores de riesgo coronario está en pleno crecimiento y abre potenciales caminos útiles de investigación en el terreno de la fisiopatología de las coronariopatías y en el desarrollo de terapias que tienen al endotelio como órgano blanco. Dada la clara relación existente entre la disfunción endotelial y los factores de riesgo coronario no sorprende que esta última esté relacionada con eventos clínicos arterioscleróticos.[37]

En un estudio en pacientes con coronariopatía leve no obstructiva se halló que la presencia de disfunción endotelial significativa incrementaba el riesgo de eventos coronarios mayores en un seguimiento de 28 meses. En contraste, aquellos pacientes con disfunción endotelial leve o sin ella no hubo eventos mayores.[39] Varios estudios subsiguientes reforzaron el concepto de que la función endotelial coronaria puede ser un indicador pronóstico útil. Schädinger estudiando pacientes coronarios demostró en un seguimiento a 7.7 años que la disfunción endotelial coronaria es un predictor independiente de arterioesclerosis y eventos coronarios mayores

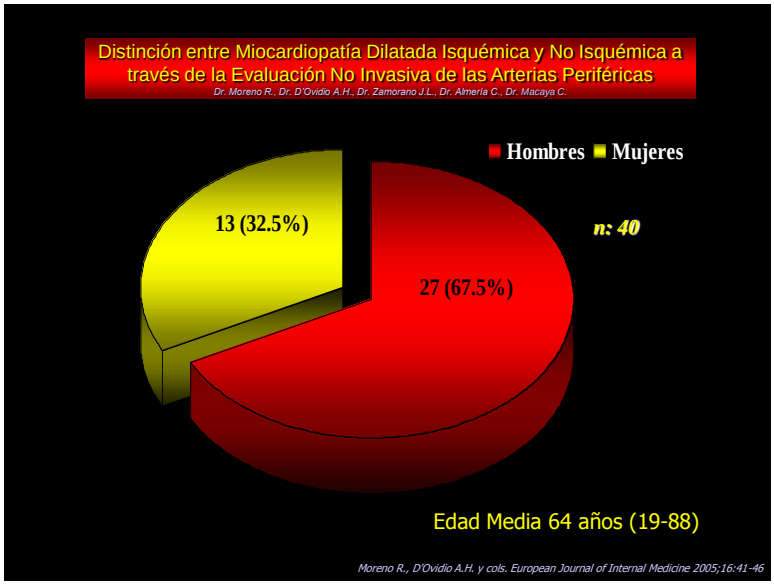
En el estudio más grande efectuado hasta la actualidad la presencia de disfunción endotelial en coronarias epicárdicas predijo de manera independiente eventos en pacientes con y sin coronariopatía.[40]

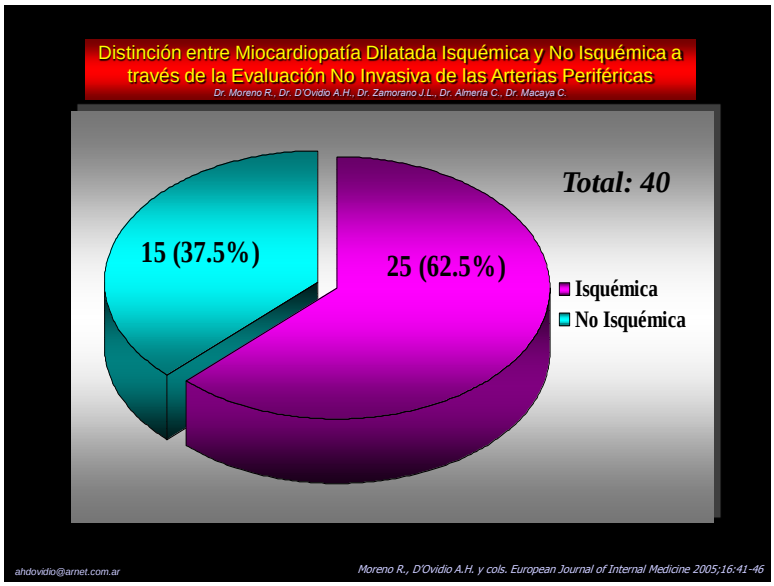
Se hallaron resultados similares también con pletismografía.[41]

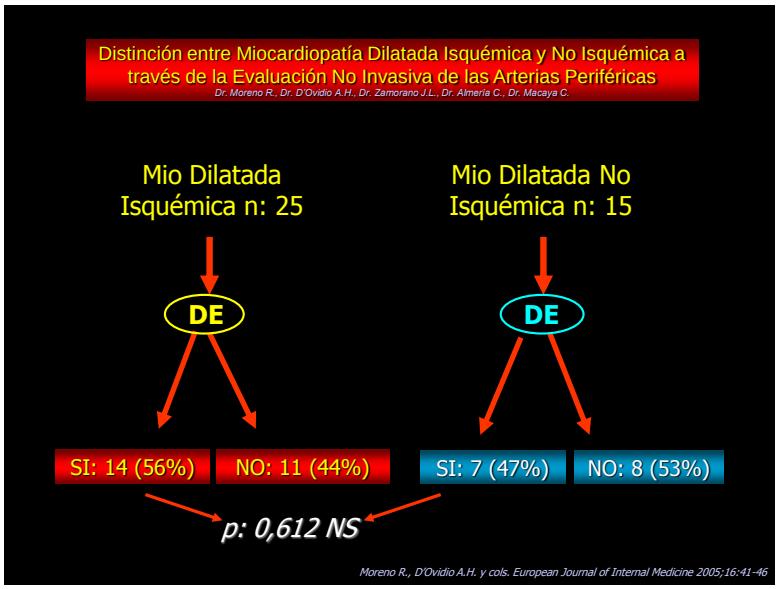
En otro estudio de gran trascendencia se siguieron 73 pacientes durante 5 años a los que se les efectuó cinecoronariografía por dolor precordial sugestivo de angina de pecho y test de vasodilatación mediada por flujo con eco se detectó que se produjeron eventos coronarios mayores incluyendo angioplastias coronarias y revascularizaciones más frecuentemente en aquellos pacientes que tenían menos de 10% de dilatación en respuesta a la isquemia producida con manguito que en aquellos que tuvieron 10% o más de dilatación.[37,42]

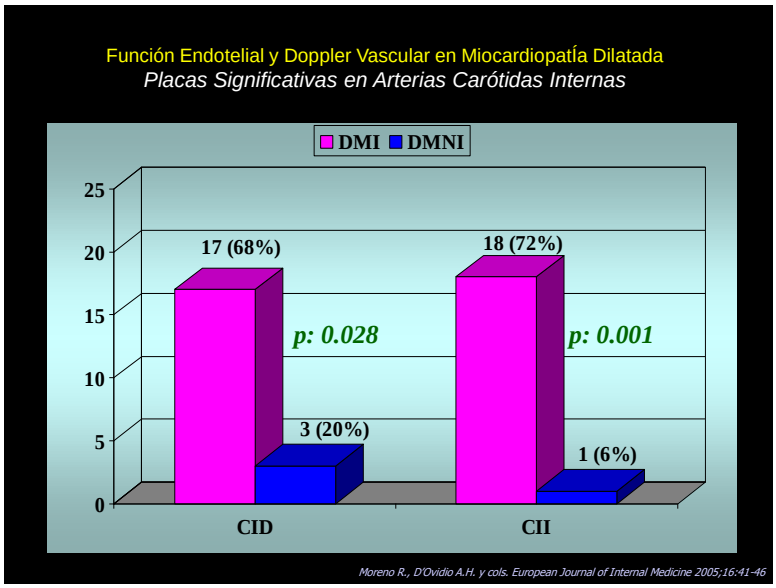
No obstante los resultados muy alentadores del estudio de VDMF, los Dres. Moreno, Zamorano, Almería, Macaya y D'Ovidio[30] publicaron recientemente un estudio efectuado en un centro privado de San Juan, Argentina y en el Departamento de Ecocardiografía del servicio de Cardiología del Hospital Clínico Universitario de San Carlos, Madrid, España, donde se pretendió determinar si el estudio no invasivo de las arterias centrales y periféricas con Eco Doppler permitía diferenciar pacientes con

miocardiopatía dilatada isquémica de la no isquémica. Se evaluaron pacientes de ambos sexos, sin límite de edad, con criterios clínicos y ecocardiográficos de Miocardiopatía Dilatada, todos con ritmo sinusal. A todos los pacientes se les efectuó evaluación clínica completa, ECG, Rx Tórax, ECO 2D y Doppler, Ecograma Doppler de Vasos del Cuello, Ecograma Doppler Arteria Braquial y de Arteria Femoral. Todos tenían efectuada cinecoronariografía .









Como se observa en los esquemas, no hubo diferencias significativas entre el grupo de miocardiopatía dilatada isquémica y no isquémica con la utilización del test de VDMF mientras que sí resultaron francamente significativos la presencia de placas carotídeas y engrosamiento miointimal difuso de arterias carótidas y femorales. Un sesgo importante del estudio fue que el estado clínico de los pacientes impedía suspender medicaciones que influyen en la función endotelial y que prácticamente todos los pacientes tomaban (enalapril y estatinas) y no hubo cumplimiento adecuado del reposo previo del paciente por ejemplo. No obstante, existió una tendencia a que el estudio sea de utilidad.

Las conclusiones fueron que la evaluación no invasiva de las arterias periféricas con eco Doppler es útil para distinguir la miocardiopatía dilatada isquémica de la no isquémica, con gran sensibilidad y especificidad para el grosor miointimal de carótidas y femorales como a la presencia de placas ateromatosas carotídeas y no hubo una tendencia a que la vasodilatación mediada por flujo sea útil en la distinción, con las consideraciones previamente hechas.

En una publicación reciente, Katz y cols.[49] evaluaron si la función endotelial, que es conocido que está deteriorada en pacientes con insuficiencia cardíaca tiene algún valor como predictor de mortalidad cardiovascular. Para ello estudiaron 259 pacientes prospectivamente de ambos sexos con insuficiencia cardíaca crónica isquémica y no isquémica en clase II y III de la NYHA. Como biomarcadores se utilizaron la VDMF empleando la conocida técnica de Celermajer y la circulación pulmonar a través del estudio del óxido nítrico exhalado producido durante ejercicio submáximo. En los 149 pacientes en los que se efectuó el estudio de VDMF (seguimiento 896 días) y en los 110 pacientes en los que se evaluó el ON exhalado tras ejercicio submáximo (seguimiento 396 días) reportaron significativamente más muertes cardiovasculares y necesidad de transplante cuando los resultados fueron anormales en ambos grupos. Concluyeron que la presencia de disfunción endotelial, sea establecida por la VDMF o por la medición del ON exhalado se asocia con un riesgo significativamente aumentado de mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca tanto isquémica como no isquémica.

Como se mencionó previamente el engrosamiento miointimal carotídeo y de las arterias periféricas es un potente predictor e indicador de enfermedad cardiovascular subclínica, tema extensamente descripto y ya aceptado tras estudios y revisiones brillantes como las de de Groot[51], Lorenz[52] y Cao[53] .

En un muy interesante estudio efectuado por Juonala M y colaboradores[50] en Finlandia, se estudió la correlación entre la presencia de disfunción endotelial y el grosor miointimal carotídeo, su correlación e interacción con los factores de riesgo en un estudio de cohorte a gran escala en adultos jóvenes. Se emplearon la medición del grosor miointimal carotídeo (GMI) con eco y la VDMF en 2109 adultos jóvenes sanos entre 24 y 39 años. Concluyeron que a mayor número de factores de riesgo mayor GMI y peor respuesta a la VDMF, concluyendo que tienen valor predictor y una relación claramente inversa, con una p de 0.001. Muy interesante además fue el hallazgo que el número de factores de riesgo coronario se correlacionó con el GMI carotídeo sólo si además se hallaba disfunción endotelial. Esas observaciones sugieren que la disfunción endotelial es un evento precoz en la arterioesclerosis y que el estado de la función endotelial puede modificar la asociación entre los factores de riesgo y la arterioesclerosis.

Otro estudio de gran trascendencia se fue publicado en JACC por Kuvin y colaboradores[54], de Tufts University School of Medicine, Boston, Massachusetts, quienes evaluaron la relación entre la presencia de disfunción endotelial evaluada por VDMF y arteriopatía coronaria evaluada con cámara Gama en 94 pacientes (43 hombres y 51 mujeres. Con un diseño muy prolijo del estudio determinaron que aquellos pacientes que presentaron enfermedad coronaria diagnosticada por cámara gama SPECT positiva (n: 23) mostraron menor dilatación de la arteria braquial en respuesta a la VDMF (6.3±0.7%) que aquellos con Cámara gama normal (n:71), que evidenciaron una vasodilatación en respuesta al estudio de VDMF mayor (10.5±0.6%) con una p<0.0004) La VDMF fue altamente predictiva de la presencia de enfermedad arterial coronaria con un Odds ratio de 1.32 para cada reducción en el porcentaje de reducción de la VDMF (p<0.001). El punto de corte utilizado fue el del 10% como respuesta normal. Sólo 2 de los 23 pacientes con enfermedad coronaria presentaron respuestas > 10% (Sensibilidad del 91%) y el resto claramente menores del 10% en tanto que sólo 2 de 40 pacientes con valores mayores del 10% mostraron una CG positiva (valor predictivo negativo del 95%). Igualmente los pacientes que presentaron VDMF normal pudieron realizar mayor tiempo de esfuerzo con una p significativa (0.01). Concluyeron que la VDMF tiene una muy alta

sensibilidad y valor predictivo negativo para enfermedad coronaria y por lo tanto tiene el potencial uso como screening en subgrupos de pacientes de bajo riesgo.

Brevetti y colaboradores[55], de la Universidad Federico II, de Nápoles, Italia, evaluaron prospectivamente el impacto de la evaluación no invasiva de la función endotelial mediante la VDMF sobre el riesgo cardiovascular en pacientes con arteriopatía periférica, con la intención de saber si el estudio agrega información de valor al ya conocido y tan valioso índice tobillo-brazo. Estudiaron 131 pacientes de ambos sexos monitorizados 23±10 meses, de los cuales 18 desarrollaron un evento coronario mayor, 12 un evento cerebrovascular y 9 un evento arterial periférico. La respuesta a la VDMF en pacientes con eventos evidenció una mediana menor que en aquellos libres de eventos en el seguimiento (5.8% vs 7.6%, $p<0.05$) En la figura 12 pueden verse las curvas de Kaplan-Meier para respuesta mayor o menor a la mediana de VDMF y su relación con eventos cardiovasculares, cerebrovasculares y arteriales periféricos. Concluyeron que una vasodilatación baja en respuesta a la VDMF es un predictor independiente de eventos cardiovasculares en pacientes con arteriopatía periférica y agrega valor pronóstico al índice tobillo-brazo, que sigue siendo el predictor más importante en enfermedad arterial periférica. (fig.12)

Chan y colaboradores[56], de la University of British Columbia, de Vancouver, Canadá, evaluaron 152 pacientes con enfermedad arteria coronaria conocida con el objetivo de determinar la importancia pronóstica de la medición no invasiva de la función endotelial y la “carga” de ateroma. Para ello diseñaron un protocolo de estudio que incluyó VDMF y VDM por nitroglicerina, eco Doppler carotídeo (presencia de engrosamiento miointimal, placas de ateroma, área de placa, área total de placa), estudios metabólicos y ergometría. El seguimiento fue de 34±10 meses durante los cuales ocurrieron 22 eventos vasculares (1 muerte, 8 síndromes coronarios agudos -7 IAM y 1 AI-, 2 eventos neurológicos -1 AIT y 1 ACV) y 11 revascularizaciones (5 PTCA, 5 Cirugías de By-pass aortocoronario y una endarterectomía carotídea. La frecuencia mayor de eventos (9.4 por 100 pacientes/año) se observó en pacientes una mala relación VDMF/VDM por nitroglicerina <0.34 y un área de placa elevada (>6.59 mm2), en tanto que la frecuencia de eventos en los pacientes con relación VDMF/VDM Nitro >0.34 fue de 5 eventos cada 100 pacientes por año. Concluyeron que el estado estructural y funcional de la vasculatura son predictores independientes de eventos coronarios como lo demostraron la evaluación de la VDMF y la “carga” ateromatosa en los estudios carotídeos. La función endotelial conservada atenúa el riesgo de eventos futuros asociados con una carga ateromatosa alta. Resumiendo, el peor pronóstico se observó en aquellos pacientes con grados severos de disfunción endotelial concomitantemente con placas carotídeas significativas.

En contraste parcial con el grupo canadiense estuvieron los hallazgos de Fathi y colaboradores[57], de Brisbane, Australia. Ellos estudiaron 444 pacientes con significativos factores de riesgo cardiovascular prospectivamente, se les efectuó VDMF, Doppler carotídeo evaluando el grosor miointimal, ecocardiograma con determinación de masa y fracción de eyección ventricular izquierda. Concluyeron que el grosor miointimal carotídeo y no la VDMF o NG es predictor, y que si bien dilatación en respuesta al test de VDMF es menor en pacientes con eventos, en esa cohorte de pacientes no tuvo valor predictivo significativo.

Este trabajo recibió un muy interesante comentario editorial de G B John Mancini [58] en la misma revista (Journal of the American College of Cardiology) que es de lectura fundamental puesto que reseña todos los trabajos significativos hasta el año de publicación (2004). Concluyó que es cierto que la evaluación de la disfunción endotelial no está lista para el “primer momento”, también es cierto que el momento de determinar de usar este método para establecer el pronóstico y monitorear la terapéutica debe

seguirse evaluando. Durante la extensa revisión resulta claro que en la mayoría de los estudios citados los resultados fueron significativos a favor del valor pronóstico de la técnica y los demás (incluso el artículo de Fathi) con tendencia favorable. No quedan dudas respecto del concepto de la relación entre la disfunción endotelial y su relación con arterioesclerosis.

Frick y colaboradores[59], de Innsbruck, Austria, también evaluaron el valor pronóstico de la VDMF y del grosor miointimal carotídeo en 398 pacientes consecutivos, con edades media de 54±9 años, todos sometidos a CCG por haber sido admitidos para evaluación invasiva de dolor precordial., con seguimiento de 39±12 meses. Concluyeron que el grosor miointimal carotídeo tiene valor pronóstico y predictivo y que en ese grupo de pacientes el valor pronóstico de la VDMF fue limitado.

Un grupo de Dinamarca (Witte y colaboradores) [60] publicó en 2005 en JACC un metanálisis a fin de intentar responder a la pregunta de si la asociación entre la vasodilatación mediada por flujo y el riesgo cardiovascular se limita sólo a las poblaciones de bajo riesgo. Metanálisis de 211 artículos seleccionados (399 poblaciones). Los resultados reseñados es que la relación entre VDMF y factores de riesgo es más clara en la categoría con el riesgo más bajo (por debajo de 2.8% por década). Se concluyó que sólo en poblaciones de riesgo bajo la función endotelial evaluado por VDMF se relaciona con los principales factores de riesgo y con el riesgo estimado de enfermedad arterial coronaria a 10 años.

Recientemente la Dra. Donald y colaboradores[61] publicaron que la reproducibilidad de la máxima variación de la VDMF en jóvenes y adultos es excelente y que la técnica es robusta y práctica para determinar el efecto de intervenciones sobre la función endotelial en estudios clínicos.

El mismo grupo evaluó en 17 adultos y en 16 niños tres métodos no invasivos (Análisis de la onda de pulso, análisis del contorno del pulso y VDMF) para compararlas y determinar su reproducibilidad y determinaron que la VDMF es la técnica más reproducible, en ambos grupos etarios.[62]

Conclusiones

- El paradigma clásico que establecía que el endotelio era una capa inerte de células que recubre el interior de los vasos ha sido claramente reemplazado por el actual, puesto que se ha demostrado que el endotelio tiene un rango enorme de funciones homeostáticas vitales. Es una barrera antitrombótica que además tiene funciones metabólicas, sintéticas y de regulación del tono vascular". Mantiene la "salud vascular"[47,48]
- Mientras que el endotelio sano a través de la liberación de sustancias como el óxido nítrico, la prostaciclina, etc. promueve tromboresistencia, antiagregación plaquetaria, mantenimiento del tono vascular, anti-migración de leucocitos, reducción de la proliferación del músculo liso, el endotelio disfuncionante libera sustancias como el tromboxano A2, factores favorecedores de la proliferación de células

musculares lisas, etc., que producen vasoconstricción, favorecen la oxidación de las LDL, favorece la agregación plaquetaria y la trombosis, promoviendo la arterioesclerosis.

- Los factores de riesgo coronario promueven disfunción endotelial.
- La arterioesclerosis en una enfermedad que compromete todos los lechos vasculares y la disfunción endotelial es una enfermedad de todos ellos, relacionándose con eventos cerebrovasculares, vasculares periféricos y coronarios.
  En los últimos años se han desarrollado varias técnicas para evaluar la función endotelial, tanto en adultos como en niños, invasivos, como la clásica infusión intracoronaria de acetilcolina que promueve vasodilatación si el endotelio está normofuncionante y vasoconstricción si está disfuncionante, pero esta técnica es peligrosa, poco práctica, costosa y no disponible para todos los grupos etarios. El desarrollo de técnicas no invasivas como la vasodilatación mediada por flujo permite, en manos experimentadas, un screening adecuado para testear la función endotelial, muy importante en la etapa preclínica y en pacientes con riego bajo. Es un estudio reproducible, de bajo costo, con resultados comparables y que ha sido probado tanto en adultos como en niños.
- De la lectura de la literatura y la experiencia propia surge que naturalmente no es el método ideal, el mismo aún no existe. Muchos trabajos en la literatura, metodológicamente correctos, mostraron resultados muy favorables a la técnica, más aún cuando se agrega información clave como el grosor miointimal carotídeo, también hay publicaciones que no evidenciaron p significativas, pero la mayoría de estos evidenciaron una tendencia a la utilidad.
- Naturalmente no se puede afirmar con los conocimientos actuales que el test de vasodilatación mediada por flujo sea el método ideal, sí es, de los no invasivos, el más fácil de efectuar y con resultados prometedores. Como todo en la medicina, la VDMF aporta un grano de arena más en la evaluación diagnóstica y pronóstica de la arterioesclerosis, ante todo está la clínica, evaluando la presencia de factores de riesgo coronario, la presencia de síntomas o no, de eventos cerebrovasculares, coronarios o vasculares periféricos, la determinación de marcadores clínicos de laboratorio, la evaluación del grosor miointimal carotídeo, la presencia de ateromas carotídeos o en las arterias periféricas, la ergometría, los tests de imágenes para la detección de isquemia miocárdica, etc.
- ***Lo más importante de diagnosticar la disfunción endotelial…es que puede ser reversible!*** Esto se puede lograr tratando adecuadamente los factores de riesgo cardiovascular y con ciertas medicaciones como estatinas o IECA.

Agradecimientos

A mi señora María y a mis hijas, Alejandra y Camila.

Tabla 1

Técnica	No Invasiva	Repetible	Reproducible	Refleja biología	Reversible	Predice evolución
CCG (cambio en el diámetro en respuesta a la acetilcolina intracoronaria)	-	-	+/-	+	+	+
Pletismografía de oclusión venosa (cambio en el flujo en el brazo)	-	+/-	+/-	+	+	+
VDMF (vasodilatación mediada por flujo)	+	+	+/-	+	+	+
Análisis de Onda del Pulso	+	+	+/-	+	-	-
Análisis del contorno del Pulso	+	+	+/-	+	-	-
Tonometría del Pulso	+	+	+/-	+	-	-

Reproducido de Deanfield J, Halcox JP and Rabelink TJ. Endothelial Function and Dysfunction: Testing and Clinical Relevance Circulation. 2007;115:1285-1295.[34]

Figuras

Figura 1

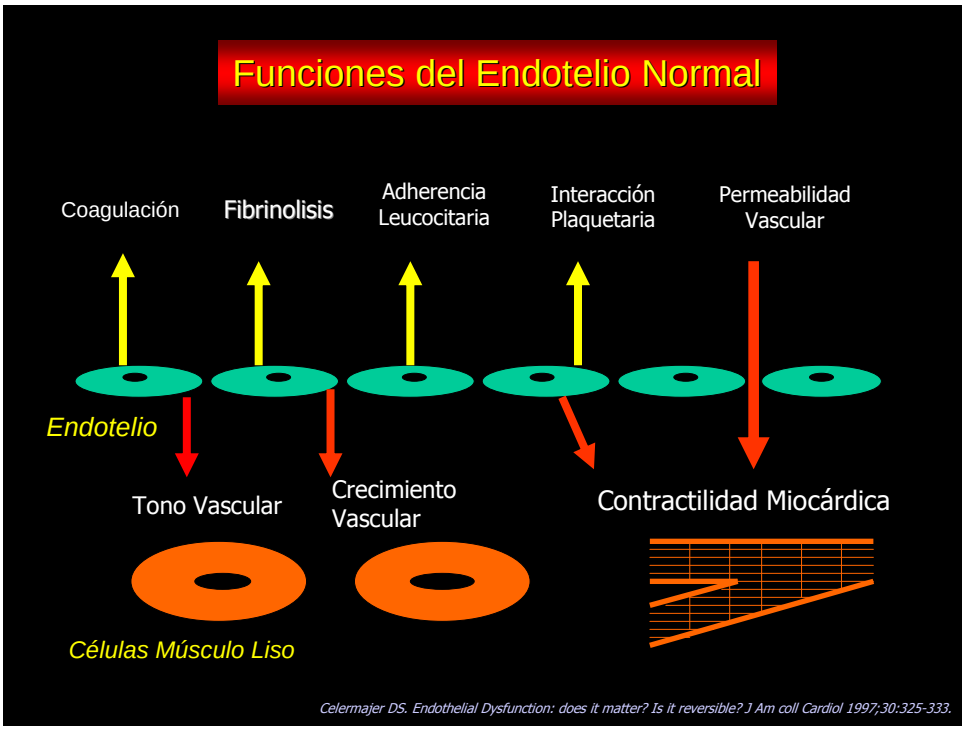


Figura 2

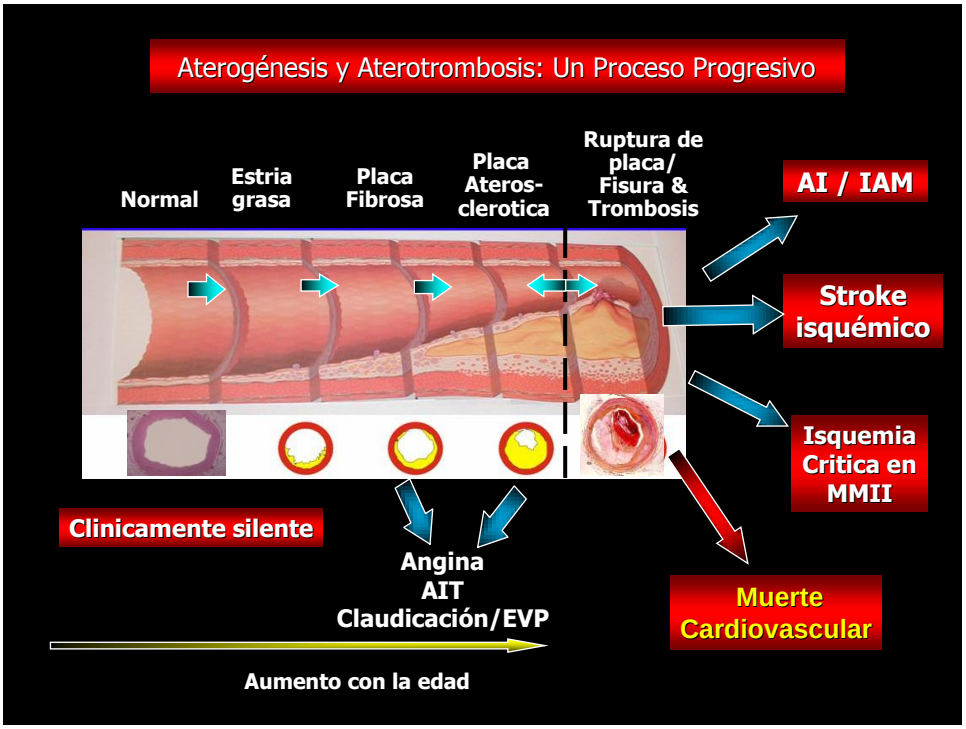


Figura 3

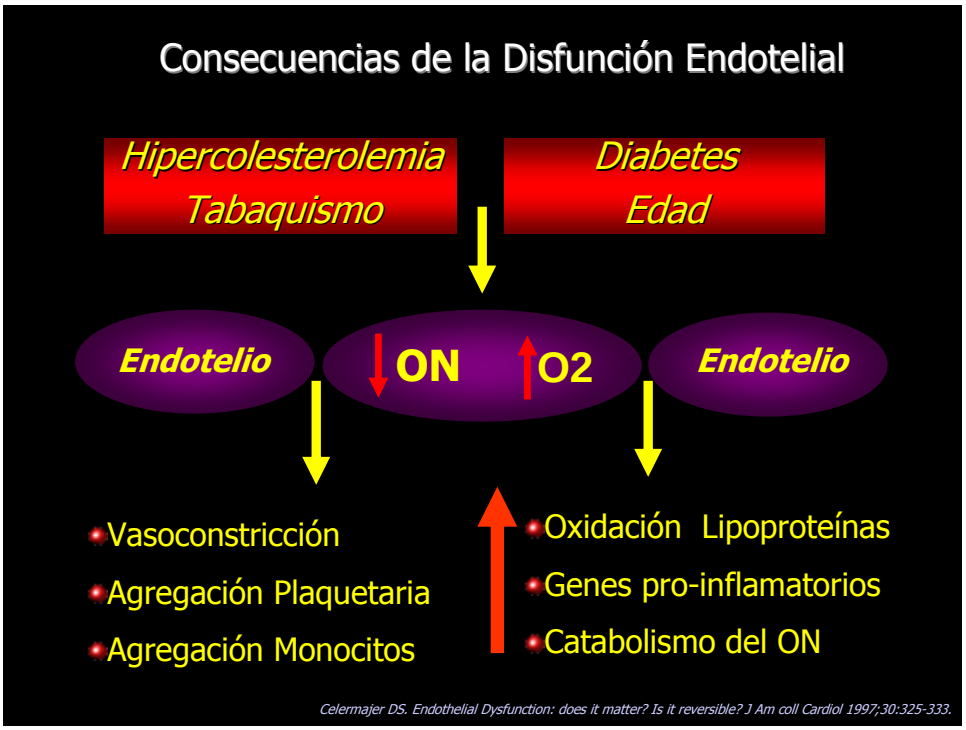


Figura 4

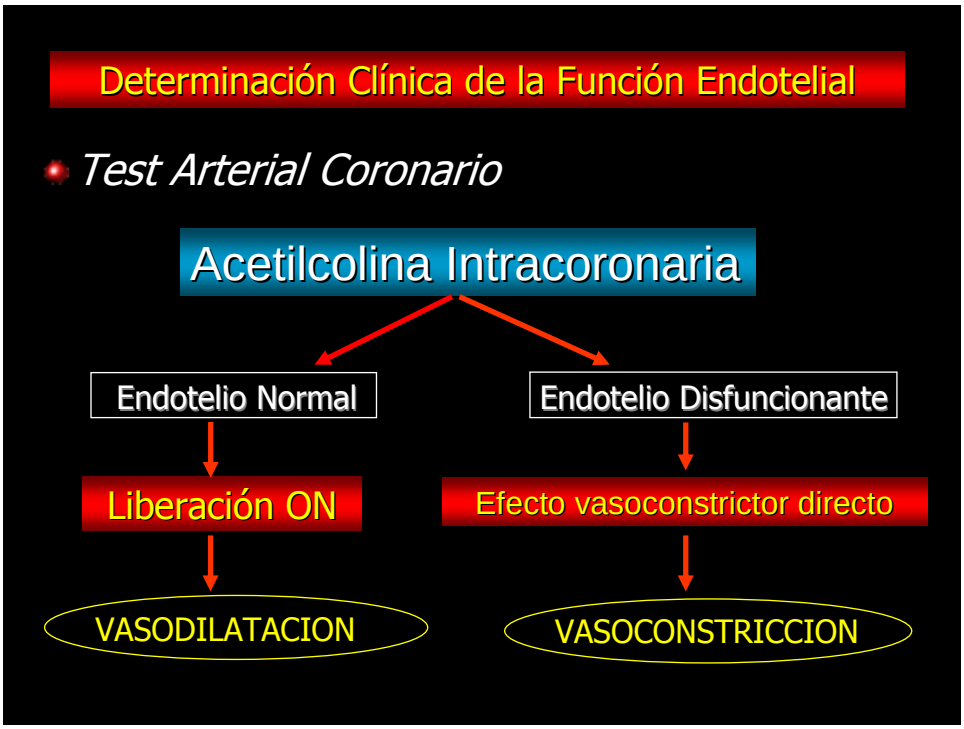


Figura 5

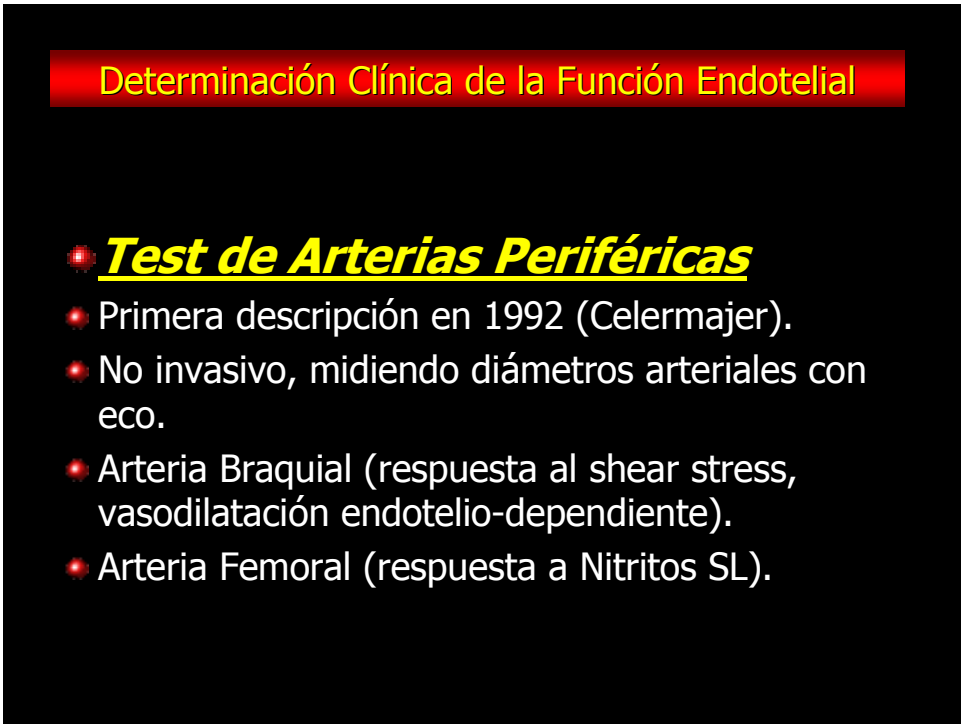


Figura 6

Test de vasodilatación endotelio-dependiente mediada por flujo de la arteria braquial

Preparación del paciente:

- Ayuno de 8 – 12 hs previo.
- Temperatura ambiente adecuada.
- Paciente confortable.
- Suspender medicaciones vasoactivas durante 4 vidas medias si fuera posible.
- No haber ingerido cafeína, comidas ricas en grasas, vitamina C, efectuado ejercicios físicos intensos o fumado 4 a 6 hs previas al estudio.

Figura 7

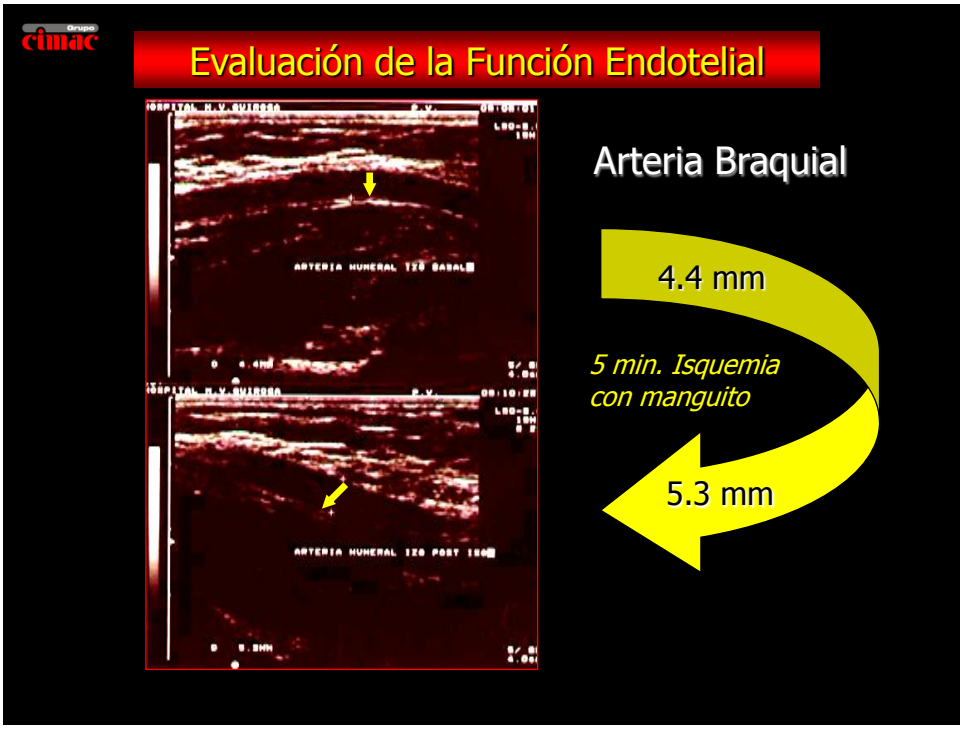


Figura 8

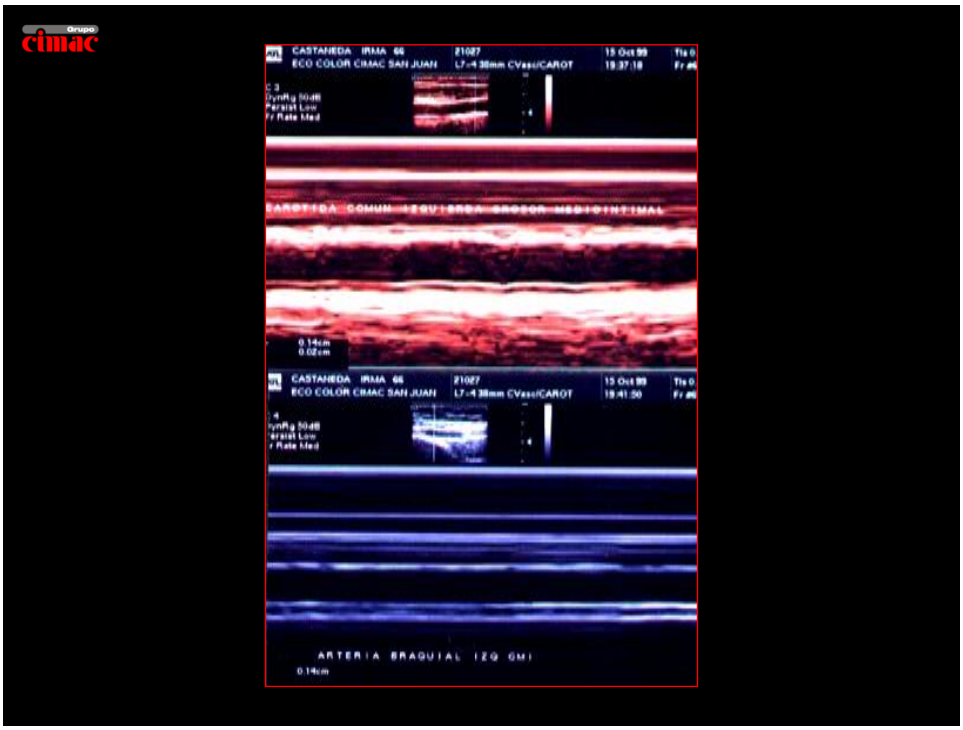


Figura 9

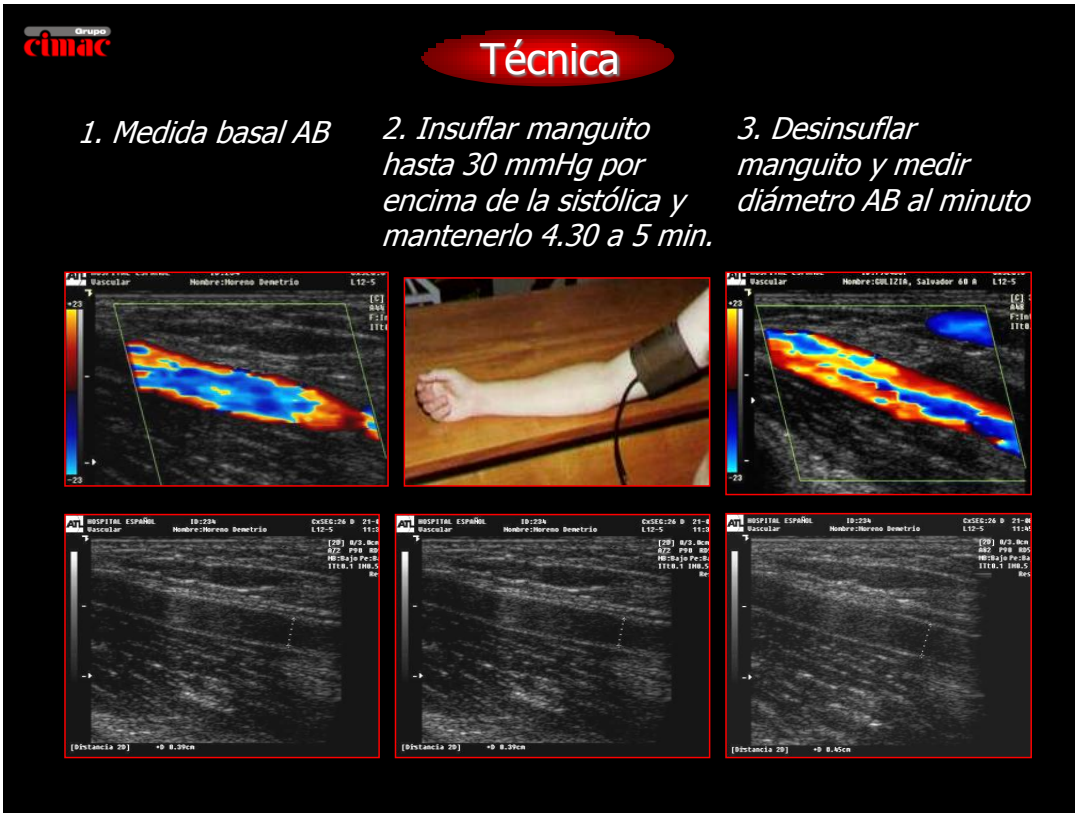


Figura 10

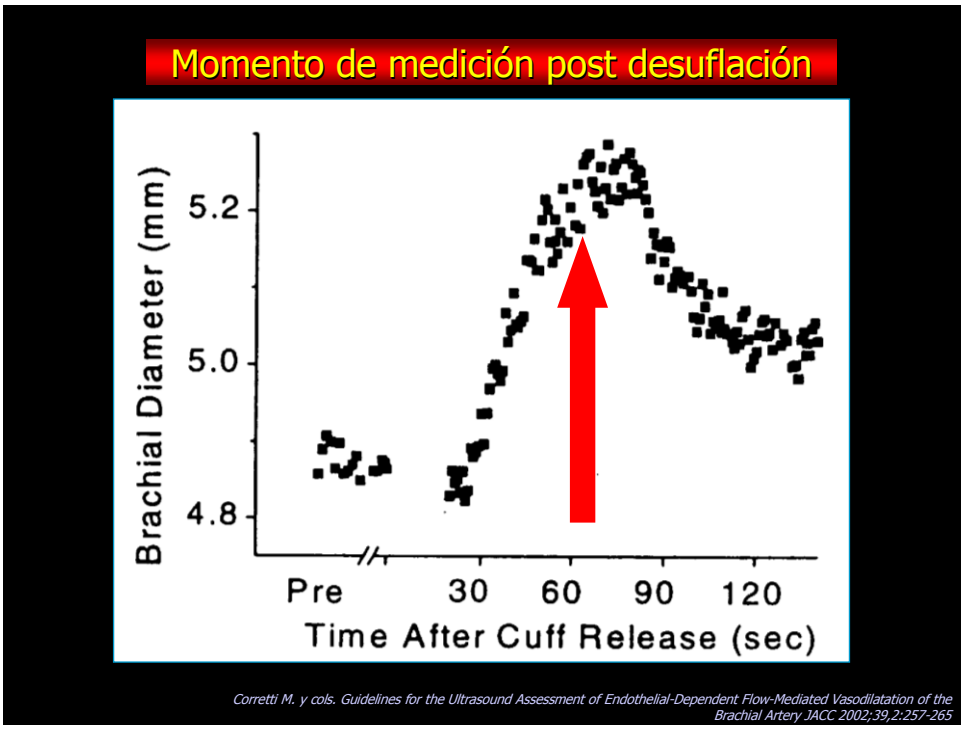


Figura 11

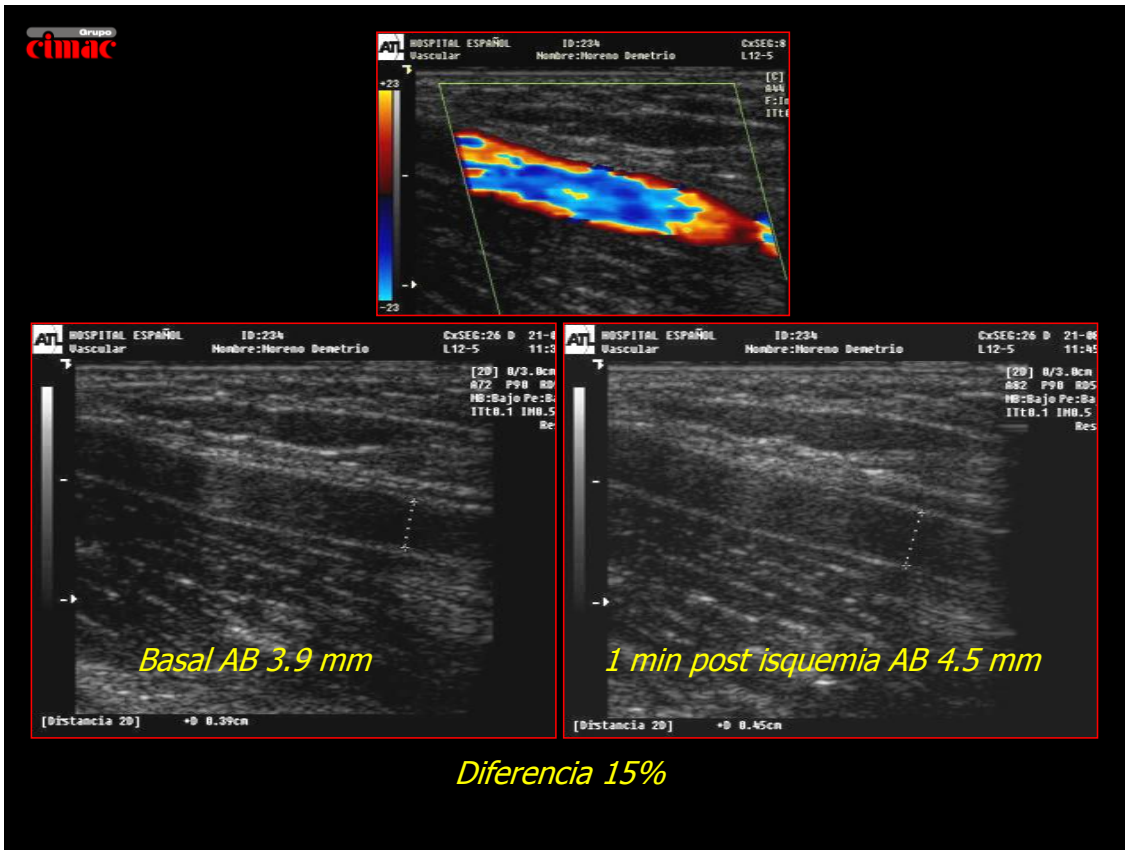
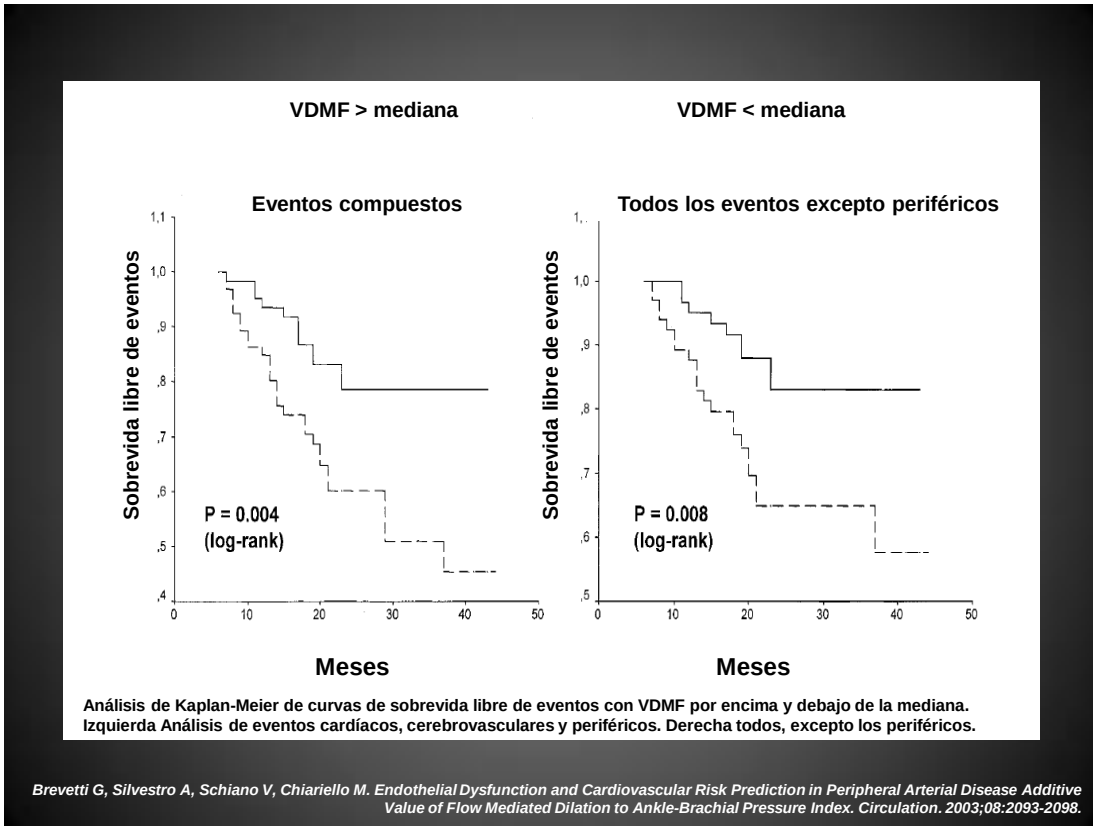


Figura 12



Reproducido de Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial Dysfunction and Cardiovascular Risk Prediction in Peripheral Arterial Disease Additive Value of Flow-Mediated Dilation to Ankle-Brachial Pressure Index. Circulation. 2003;08:2093-2098.55

Bibliografía

1. **Celermajer DC. Endothelial Dysfunction: does it matter? Is it reversible? *J Am Coll Cardiol* 1997;30:325-333.**
2. **Petty RG y cols. *J R Coll Physicians* 1989;23:92-101**
3. **Rubanyi GM *J Cardiovasc Pharmacol* 1993;22 Suppl 4:S1-14**
4. **Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer DC, Charbonneau F, Creager MA et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilatation of the brachial artery*. J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-265.**
5. **Laurent S, Lacolley P, Brunel P, Laloux B, Pannier B, Safar M. Flow-dependent vasodilation of brachial artery in essential hypertension. *Am J Physiol* 1990;258:H1004–11.**
6. **Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation* 1989;79:93–100.**
7. **Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111–5.**
8. **Lerman A & Zeiher AM. Contemporay reviews in cardiovascular medicine. Endothelial function. Cardiac events. *Circulation* 2005:111:363-368.**
9. **Bonetti PO, Lerman LO, Lerman A. Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioescler Thromb Vasc Biol.* 2003;23:168-175.**
10. **Hermann J, Lerman LO, Rodriguez-Porcel M, Holmes DR Jr., Richardson DM, Rittman EL, Lerman A. Coronary vasa vasorum neovascularization precedes epicardial endotelial dysfunction in experimental hipercolesterolemia. *Cardiovasc Res.* 2001;51:762-766.**
11. **Furchgott RF & Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cell in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;299:373-376**
12. **Gokce N, Keaney Jr. JF, Hunter LM,Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO, et al. Predictive value of noninvasively determined endotelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2003; 41: 1769-75.**
13. **Sanada H, Higashi Y, Goto C, Chayama K,Yoshizumi M, Sueda T. Vascular function in patients with lower extremity peripheral arterial disease: a comparison of functions in upper and lower extremities. *Atherosclerosis* 2005; 178: 179-85.**
14. **Rubanyi GM: The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993, 22(Suppl 4):S1-S14.**
15. **Vanhoutte PM: How to assess endothelial function in human blood vessels. J Hypertension 1999, 17:1047-1058.**
16. **Esper RJ, Nordaby RA, Vilariño JO, Paragano A, Cacharrón JL and Machado RA. Endothelial dysfunction: a comprehensive appraisal *Cardiovascular Diabetology* 2006, 5:1-18.**
17. **Libby P. The vascular Biology of Atherosclerosis En: Libby P, Bonow RO, Mann DL, Zipes DP Braunwald E. *Braunwald.s Heart Disease*. A textbook of cardiovascular medicine. Saunders Elsevier 8th Ed. 2008; Ch. 38:985-1002.**
18. **Cooke JP, Tsao PS: Is NO an endogenous antiatherogenic molecule? *Arterioscler Thromb* 1994, 14:753-759.**
19. **Esper RJ, Vilariño JO: La disfunción endotelial. In *Aterotrombosis en el tercer milenio* Edited by: Esper RJ. Prous Sciences, Barcelona; 2004:49-83.**
20. **Drexler H. Endothelial dysfunction: clinical implications. *Prog Cardiovasc Dis* 1997; 39: 287-324.**

21. **Schmieder JS. Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia potential mechanisms and differences. *J Hypertens* 2000; 18: 363-74.**
22. **Caballero AE, Arora S, Saouaf R, Lim SC, Smakowski P, Park JY, et al. Microvascular and macrovascular reactivity is reduced in subjects at risk for type 2 diabetes. *Diabetes* 1999;48:1856-62.**
23. **Shivalkar B, Dhondt D, Goovaerts I,Van Gaal L, Bartunek J, Van Crombrugge P, et al. Flow mediated dilatation and cardiac function in type 1 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* 2006;97: 77-82.**
24. **Järvisalo MJ, Raitakari M, Toikka JO, Putto-Laurila A, Rontu R, Laine S, et al. Endothelial dysfunction and increased arterial intima-media thickness in children with type 1 diabetes. *Circulation* 2004; 109: 1750-5.**
25. **Yu HI, Sheu WHH, Lai CJ, Lee WJ, Chen YT. Endothelial dysfunction in type 2 diabetes mellitus subjects with peripheral artery disease. *Int J Cardiol* 2001; 78: 19-25.**
26. **Celermajer DS, Sorensen K, Georgakopoulos D, Bull C, Thomas O, Robinson J, et al. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilation in healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-55.**
27. **Brevetti G, Silvestro A, Di Giacomo S, Bucur R, Di Donato A, Schiano V, et al. endothelial dysfunction in peripheral arterial disease is related to increase in plasma markers of inflammation and severity of peripheral circulatory impairmentbut not to classic risk factors and atherosclerosis burden. *J Vasc Surg* 2003; 38: 374.**
28. **Medina F, De Haro J, Martínez E, De Benito L, March JR, Acín F. Relación de la disfunción endotelial medida por un método no invasivo y la enfermedad arterial periférica [abstract]. *Angiología* 2005; 57: 288.**
29. **Martínez-Aguilar E, de Haro-Miralles J, Medina-Maldonado FJ, Flórez-González A, Varela-Casariego C, Acín F. ¿Cuál es el momento idóneo para la medición por ultrasonidos de la dilatación braquial mediada por flujo? *Angiología* 2007; 59: 375-80.**
30. **Moreno R, D'Ovidio AH, Zamorano JL, Almería C, Macaya C. Distinguishing between ischemic and non-ischemic dilated cardiomyopathy based on non-invasive ultrasonic evaluation of peripheral arteries. *European Journal of Internal Medicine* 2005;16:41–46.**
31. **Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction*. J Am Coll Cardiol* 1994;24:1468–74.**
32. **De Groot E, Jukema JW, van Swijndregt ADM, Zwinderman AH, Ackerstaff RG, van der Steen AF, et al. B-mode ultrasound assessment of pravastatin treatment effect on carotid and femoral artery walls and its correlations with coronary arteriographic findings: a report of the Regression Growth Evaluation Statin Study (REGRESS). *J Am Coll Cardiol* 1998;31:1561–7.**
33. **Deanfield J, Donald A, Ferri C, Giannattasio C, Halcox J, Halligan S, Lerman A, Mancia G, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Schiffrin EL, Taddei S, Webb DJ; Working group on endothelin and endothelial factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part I. Methodological issues for assessment in the diferent vascular beds: a statement by the Working Group on Endothelin and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens*. 2005;23:7–17.**
34. **Deanfield J, Halcox JP and Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance *Circulation* 2007;115:1285-1295.**

35. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Eng J Med* 1986;315:1046–1051.
36. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, et al. Systemic nature of endotelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995;75:71B–74B.
37. Davignon J. & Ganz P. Role of Endothelial Dysfunction in Atherosclerosis. *Circulation* 2004;109[suppl III]:III-27–III-32.
38. Zeiher AM, Krause T, Schächinger V, et al. Impaired endothelium dependent vasodilation of coronary resistance vessels is associated with exercise-induced myocardial ischemia. *Circulation* 1995;91:2345–2352.
39. Al Suwaidi J, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation* 2000;101:948–954.
40. Halcox JPJ, Schenk WH, Zalos G, et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial function. *Circulation* 2002;106:653–658.
41. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, et al. Endothelial dysfunction, oxidative stress, and risk of cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Circulation* 2001;104:2673–2678.
42. Schächinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction and adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation* 2000;101:1899–1906.
43. Schroeder S, Enderle M, Ossen R, et al. Noninvasive determination of endothelium-mediated vasodilation as a screening test for coronary artery disease: pilot study to asssess the predictive value in comparison with angina pectoris, exercise echocardiography and myocardial perfusión imaging. *Am Heart J* 1999;138:731-739.
44. Stadler RW, Taylor JA, Lees RS. Comparison of B-mode, M-mode and echo-tracking methods for measurement of the arterial distensión waveform. *Ultrasound Med Biol* 1997;23:879–87.
45. Corretti MC, Plotnick GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol* 1995;268:H1397–H1404.
46. Dalli E, Segarra L, Ruvira J y cols. , Esther Esteban Dilatación de la arteria humeral mediada por flujo en varones sanos, con factores de riesgo e infarto agudo de miocardio. Importancia de la posición del manguito oclusor. *Rev Esp Cardiol* 2002;55(9):928-35.
47. Celermajer DS. Editorial comment. Statins, skin, and the search for a test of endothelial function. *J Am Coll Cardiol* 2003 (42);1:78-80.
48. Zeiher AM. Endothelial vasodilator dysfunction: pathogenetic link to myocardial ischemia or epiphenomenon? *Lancet* 1996;348 Suppl 1:s10–2.
49. Katz SD, Hryniewicz K, Hriljac I, Balidemaj K, Dimayuga C, Hudaihed A, Yasskiy A. Vascular endothelial dysfunction and mortality risk in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2005;111:310-314.
50. Juonala MD, Viikari JSA, Laitinen T, Marniemi J, Helenius H, Rönnemaa T. Interrelations between brachial endothelial function and carotid intima-media thickness in young adults. The Cardiovascular Risk in Young Finn Study. *Circulation* 2004;110:2918-2923.
51. de Groot E, Kees Hovingh G, Wiegman A, MD; Duriez P, Smit A, Fruchart J-Ch, Kastelein JP. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109[suppl III]:III-33–III-38.
52. Lorenz M, Markus H, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness A systematic review and meta-analysis *Circulation* 2007;115:459-467.
53. Cao JJ, Arnold AM, Manolio TA, Polak JF, Psaty BM, Hirsch CH, Kuller LH, Cushman M. Association of carotid artery intima-media thickness, plaques,

and C-Reactive protein with future cardiovascular disease and all-cause mortality. The Cardiovascular Health Study. *Circulation* 2007;116:32-38.

54. Kuvin J, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Rand WM, Udelson JE, Karas RH. Peripheral vascular endothelial function testing as a noninvasive indicator of coronary artery disease *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1843–9.

55. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation* 2003;08:2093-2098.

56. Chan SY, Mancini GBJ, Kuramoto L, Schulzer M, Frohlich J, Ignaszewski A. The prognostic importance of endothelial dysfunction and carotid atheroma burden in patients with coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2003;42:1037–43.

57. Fathi R, Haluska B, Isbel N, Short L, Marwick TH. The Relative Importance of Vascular Structure and Function in Predicting Cardiovascular Events. *J Am Coll Cardiol* 2004;43:616 –23.

58. Mancini GBJ. Editorial comment. Vascular Structure Versus Function: Is endothelial dysfunction of independent prognostic importance or not? *J Am Coll Cardiol* 2004;43(4):624-628.

59. Frick M, Suessenbacher A, Alber H, Dichtl W, Ulmer H, Pachinger O, Weidinger F. Prognostic value of brachial artery endothelial function and wall thickness. *J Am Coll Cardiol* 2005;46:1006–10.

60. Witte DR, Westerink J, de Koning EJ, van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML. Is the association between flow-mediated dilation and cardiovascular risk limited to low-risk populations? *J Am Coll Cardiol* 2005;45:1987–93.

61. Donald AE, Halcox P, Charakida M, Storry C, Wallace SML, Cole TJ, Friberg P, Deanfield JE. Methodological approaches to optimize reproducibility and power in clinical studies of flow-mediated dilation. *J Am Coll Cardiol* 2008;51:1959–64.

62. Donald AE, Charakida M, Cole TJ, Friberg P, Chowienczyk PJ, Millasseau SC, Deanfield JE, Halcox JP. Non-invasive assessment of endothelial function. Which technique? *J Am Coll Cardiol* 2006;48:1846–50.