

Evaluación de la función endotelial por eco-Doppler. Influencia de la edad, sexo y factores de riesgo

JORGE O. VILARINO, JOSE L. CACHARRON, DANIEL H. SUAREZ*, MARTA KURA, ROGELIO MACHADO°, ALBERTO L. BOLANO, RICARDO J. ESPER°

Servicios de Cardiología del Hospital Militar Central, Buenos Aires, y del Hospital "Alejandro Gutiérrez", Venado Tuerto, Santa Fe

* Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

Trabajo recibido para su publicación: 1/98 Aceptado: 6/98

Dirección para correspondencia: Dr. Ricardo J. Esper, Servicio de Cardiología, Hospital Militar Central,

Avda. Luis M. Campos 700, (1426) Buenos Aires, Argentina

° Miembro Titular SAC

° FACC

Antecedentes

La vasodilatación posisquémica de la arteria humeral es función del óxido nítrico que libera el endotelio arterial por efecto de la presión de rozamiento (*shear stress*) de la corriente sanguínea, y su magnitud expresa el estado funcional endotelial. El objetivo del presente estudio fue evaluar la función endotelial luego de una isquemia arterial transitoria en una población sin manifestaciones de enfermedad cardiovascular, con y sin factores de riesgo cardiovascular, a los fines de conocer la influencia de la edad, el sexo y los factores de riesgo sobre la misma.

Material y método

A 165 sujetos con edad promedio de $52,15 \pm 16,59$ años, 87 hombres, 60 de ellos sin factores de riesgo y los 105 restantes con: hipercolesterolemia ($LDL > 160 \text{ mg}\%$), hipertensión arterial ($> 140/90 \text{ mmHg}$), tabaquismo ($+ 1$ cigarrillo/día), obesidad ($\text{kg}/\text{m}^2 > 30$) y sedentarismo, se les midió el diámetro y el flujo de la arteria humeral con eco-Doppler, antes y después de 5 minutos de isquemia del antebrazo, mantenida con un manguito de presión insuflado, evaluando el porcentaje de variación de las medias muestrales por ANOVA y las variaciones intergrupos, mediante la prueba "t" o la paramétrica de Mann Whitney, y la relación entre edad y porcentaje de cambio con regresión simple y múltiple. Posteriormente se los sometió a la medición de los mismos parámetros luego de la administración de nitroglicerina para determinar la vasodilatación endotelio-independiente.

Resultados

En la población general el diámetro posisquemia aumentó $14,5 \pm 12\%$, $p < 0,0001$ (hombres $14,2 \pm 14\%$ y mujeres $14,9 \pm 10\%$, NS), y el flujo $50,3 \pm 66,6\%$, $p < 0,0001$ (hombres $50,8 \pm 74,3\%$ y mujeres $41,8 \pm 57,3\%$, NS). Los sujetos sin factores de riesgo dilataron el diámetro posisquemia $19,1 \pm 15\%$ versus los portadores de factores de riesgo $11,9 \pm 9\%$ ($p < 0,002$), sin mostrar cambios significativos en el flujo. Los factores de riesgo que más influyeron en la reducción de la dilatación arterial fueron: tabaquismo $6,41\%$ ($p < 0,0005$), hipercolesterolemia $9,14\%$ ($p < 0,001$) e hipertensión arterial $11,7\%$ ($p < 0,01$). Se observó una relación inversamente proporcional entre la vasodilatación posisquémica y la edad. Después de la nitroglicerina, la dilatación y el aumento de flujo fueron superiores a los observados posisquemia, con niveles semejantes entre sí.

Conclusiones

La función endotelial, evaluada por la vasodilatación posisquémica de la arteria humeral, muestra un marcado deterioro en los portadores de factores de riesgo, especialmente hipercolesterolemia, tabaquismo e hipertensión arterial. Además, disminuye progresivamente con la edad, in-

dependientemente del sexo y los factores de riesgo. La evaluación del diámetro y flujo de la arteria humeral por eco-Doppler es una técnica incruenta, repetible y que permite estratificar riesgo en sujetos sin **manifestaciones de enfermedad cardiovascular. Por otra parte, prueba la importancia de los factores de riesgo en el deterioro de la función endotelial.** REV ARGENT CARDIOL 1998; 66 (5): 523-532.

Palabras *clave* Aterosclerosis - Endotelio - Eco-Doppler - Factores de riesgo - Vasodilatación - Hipercolesterolemia - Tabaquismo - Hipertensión

En 1980 Furchgott y colaboradores comunicaron el hallazgo de una sustancia vasodilatadora producida por el endotelio que llamaron "*endothelium-derived relaxing factor*" (factor de relajación derivado del endotelio) y, posteriormente, desnudando el endotelio arterial, comprobaron su trascendencia como efector directo de la dilatación arterial. (1) Años después se pudo identificar a dicho factor como el óxido nítrico (2) y se inició una verdadera cascada de descubrimientos que determinaron que el óxido nítrico no solo es el vasodilatador más poderoso de la economía sino que, además, es antioxidante, bloquea la adhesión celular, reduce la agregación plaquetaria, inhibe la migración de los leucocitos, y el crecimiento, proliferación, migración y modulación fenotípica de las células musculares lisas de la pared arterial. Además, tiene acción fibrinolítica a través de la estimulación de la génesis del activador del plasminógeno tisular y actividad antitrombótica, todo lo cual lo convierte en el más eficaz de los protectores contra la aterosclerosis en todas sus etapas. (3-6)

Las células endoteliales son verdaderos sensores-efectores que responden frente a los estímulos, generando una variedad de sustancias para equilibrar la homeostasis circulatoria. (7) Todos los factores que alteran la biología del endotelio, físicos, químicos o tóxicos, reducen su potencial de producción y liberación de óxido nítrico y, con ello, su capacidad de vasodilatación. (8) Esto se objetiva con la llamada respuesta paradójica a la acetilcolina, que de vasodilatadora se transforma en vasoconstrictora, hecho comprobado no solo experimentalmente sino en múltiples arterias de la economía y, especialmente, en la circulación coronaria. (9-11)

El estudio de la respuesta coronaria requiere de la coronariografía, procedimiento cruento y no fácilmente repetible, por lo que se recurrió a otras arterias superficiales como la humeral, que tiene el mismo comportamiento fisiológico de las coronarias y por ello es considerada "subrogante" de las mismas. (12,13) En un comienzo se estudió con pletismografía, estimando la respuesta a diversas sustancias inyectadas por vía intraarterial, que permite también valorar la microvasculatura. (14,15) Recientemente, Celermajer y colaboradores comprobaron que es posible la evaluación de la respuesta vasodilatadora de la arteria humeral por la medición de su

diámetro y flujo por eco-Doppler, obtenidos antes y después de una isquemia transitoria. (16) Esta técnica ofrece la ventaja de ser incruenta, repetible y al alcance de cualquier centro médico, y ha generado lógicas expectativas por la posibilidad de determinar disfunción endotelial precoz y permitir estratificar riesgo, más el hecho de poder evaluar todo tipo de terapia. El objetivo del presente trabajo fue conocer la respuesta vasodilatadora posisquémica de la arteria humeral en la población general, y la influencia de la edad, sexo, y factores de riesgo, con una metodología semejante a la del grupo de Celermajer, pero con algunas modificaciones que la simplifican, facilitando su realización como parte de un examen general.

MATERIAL Y METODO

Población

Fueron estudiados 165 sujetos de ambos sexos, todos con ritmo sinusal, 60 de los cuales no referían factores de riesgo cardiovascular alguno, y los 105 restantes padecían uno o varios factores de riesgo cardiovascular, cuyas características figuran en la Tabla 1. La mayoría de ellos fueron reclutados entre el personal del hospital, o eran pacientes ambulatorios asintomáticos que concurren a la consulta por diversos motivos. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité de Ética del Departamento de Docencia e Investigación del Hospital Militar Central, y los pacientes dieron siempre su consentimiento en forma oral.

Factores de riesgo

Se consideraron los siguientes factores de riesgo: 1) hipercolesterolemia, cuando el valor del colesterol LDL plasmático superaba los 4,12 mmol/L (160 mg/dl) con hipertrigliceridemia menor de 3,97 mmol/L (350 mg/dl) luego de 12 horas de ayuno; 2) tabaquismo, en todos aquellos que fumaron al menos 1 cigarrillo diario en los últimos 3 años; 3) hipertensión arterial, cuando las cifras tensionales en condiciones basales excedían los 140/90 mmHg; 4) obesidad, cuando el índice de masa corporal (peso/altura²) superaba el valor 30, y 5) sedentarismo, cuando la actividad física capaz de generar una frecuencia cardíaca mayor del 50% de la basal fuera

Tabla 1
Características de los pacientes estudiados

	<i>n</i>	<i>Edad promedio (años)</i>	<i>±Desvio estándar</i>	<i>Límites</i>	<i>% del total</i>
Total de pacientes	165	52,15	16,59	17-85	100,00
Hombres	87	51,86	16,31	17-80	52,70
Mujeres	78	52,47	17,00	17-85	47,30
Sin factores de riesgo	60	44,75	17,35	17-80	36,36
Con factores de riesgo	105	56,38	14,62	25-85	63,63
Hipercolesterolemia	49	59,82	13,10	28-85	29,69
Hipertension arterial	54	61,20	11,89	28-84	32,72
Tabaquismo	27	45,44	15,43	25-73	16,36
Obesidad	21	55,19	13,76	26-74	12,72
Sedentarismo	44	56,00	15,80	25-85	26,66

menor de 30 minutos 3 veces por semana. De los 105 pacientes con factores de riesgo, 48 exhibían solo 1, 30 pacientes tenían 2, 22 pacientes, 3, 4 pacientes 4 y solamente un paciente tenía los 5 factores de riesgo (Tabla 1). Se excluyeron obesidad extrema, diabetes, anomalías hepáticas agudas o crónicas, enfermedades renales severas, valores de laboratorio patológicos, como enzimas o creatinina elevadas, anemias severas y los que recibieron medicación capaz de influir en la frecuencia cardíaca o en el tono de la pared arterial.

Procedimiento

A todos los pacientes se los examinó en las primeras horas de la mañana, luego de no menos de 12 horas de ayuno, sin haber fumado ni ingerido cafeína durante ese tiempo. Ninguno recibió medicación alguna que pudiera haber alterado la frecuencia cardíaca o la respuesta vasodilatadora arterial, ni sedantes. Una vez alcanzado el estado basal y en posición decúbito dorsal, se les colocó una derivación electrocardiográfica de referencia y un manguito de presión desinflado en el antebrazo a estudiar. Se procedió a visualizar la arteria humeral derecha o izquierda, según la posición del operador, a pocos centímetros del pliegue del codo, con un equipo de ultrasonografía Toshiba 140 (Tokio, Japón), utilizando un transductor de 7,5 Mhz, y se tuvo la precaución de marcar el lugar donde se ubicó el transductor. Se realizaron las correspondientes mediciones y, posteriormente, se insufló el manguito de mercurio a no menos de 200 mmHg durante 5 minutos, teniendo en cuenta superar la presión sistólica del sujeto en no menos de 30 mmHg, para producir isquemia del antebrazo durante ese tiempo. Una vez finalizado este periodo, y con el transductor ubicado en el lugar prefijado, se liberó la presión del manguito y se procedió a visualizar nuevamente la arteria humeral, realizándose inmediatamente el registro del flujo, y luego, a los 30, 60 y 90 segundos el diámetro de la arteria. Se tuvo la precaución de no modificar la posición del trans-

ductor ni el calibrado de los controles para realizar mediciones comparables.

Se dejó a los pacientes recostados durante 10-15 minutos, hasta recuperar nuevamente el estado basal, y se les administró por vía sublingual 0,3 mg de nitroglicerina o 5 mg de dinitrato de isosorbide y, entre los 2 y 4 minutos posteriores, se realizaron nuevamente las mediciones cada 30 segundos en iguales condiciones. Se midió el diámetro arterial al final de la diástole, sobre el inicio del QRS del electrocardiograma, considerando la luz arterial desde una superficie endotelial interna hasta la opuesta, y en base a ello se calculó el área de la sección arterial por la fórmula: $n \times R^2$ ($3,1416 \times \text{Radio}^2$). Con el volumen de muestreo del Doppler pulsado en el medio de la luz arterial, y con un ángulo de incidencia menor de 70°, se midió la velocidad media de flujo por latido. Se calculó el volumen de flujo/latido por el producto de velocidad media de flujo por área de sección arterial. Las mediciones fueron realizadas siempre por dos de los autores (JV y RJE) y sobre, por lo menos, 3 latidos, promediándose los resultados. De esta manera se obtuvieron el diámetro y el flujo arterial máximos en reposo, posisquemia y posnitritos. Se estimó a la vasodilatación posisquemia como endotelio-dependiente, ya que depende del óxido nítrico que produce y/o libera el endotelio, y a la posnitritos como endotelio-independiente, porque es función directa del efecto de la droga sobre el músculo liso vascular.

Análisis estadístico

Se calcularon las diferencias entre los valores reposo y posisquemia en la población total y en ambos sexos, en las poblaciones con y sin factores de riesgo, y en los grupos que portaban solamente hipercolesterolemia, tabaquismo e hipertensión arterial, y las diferencias entre los pacientes con y sin factores de riesgo respecto de sexo y edad. Se evaluaron estadísticamente las diferencias entre las medias muestrales por análisis de varianza (ANOVA), amalgamadas o separadas, según existiera o no homogeneidad de

Tabla 2
Valores de los diámetros arteriales (en mm) y flujos arteriales en reposo, posisquemia, y porcentaje de cambio posisquemia en la población general, en ambos sexos, y en los grupos con y sin factores de riesgo (FR).
Los valores son expresados como el promedio ± desvío estándar

	Edad (años)	Diámetro reposo	Diámetro isquemia	Cambio (%)	Flujo reposo	Flujo isquemia	Cambio (%)
Total (n = 165)	52,15 ± 16	3,6 ± 0,8	4,2 ± 0,9	14,5 ± 12 p < 0,0001	2,9 ± 2,3	4,2 ± 3,2	50,3 ± 66,6 p < 0,0001
Varones = 87	51,86 ± 16	3,9 ± 0,7	4,5 ± 0,9	14,2 ± 14 p < 0,0001	3,2 ± 2,4	4,6 ± 3,1	50,8 ± 74,3 p < 0,0001
		 p < 0,0001 			 p < 0,01 		
Mujeres = 78	52,47 ± 17	3,3 ± 0,7	3,8 ± 0,8	14,9 ± 10 p < 0,0001	2,4 ± 2,0	3,6 ± 3,0	41,8 ± 57,3 p < 0,0001
Con FR (n = 105)	56,38 ± 14	3,6 ± 0,8	4,0 ± 0,9	11,9 ± 9 p < 0,0001	3,0 ± 2,1	4,3 ± 2,9	43,0 ± 46,9 p < 0,0001
			 p < 0,006 	 p < 0,002 			
Sin FR (n = 60)	44,75 ± 17	3,7 ± 0,8	4,4 ± 1,0	19,1 ± 15 p < 0,0001	2,6 ± 2,6	4,0 ± 3,5	63,1 ± 90,4 p < 0,0001

varianzas, y las variaciones intergrupos mediante la prueba "t" de Student para muestras apareadas. Cuando el número de pacientes era escaso se aplicó, para la comparación de los promedios, la prueba paramétrica de Mann Whitney. La relación entre edad y porcentaje de cambios se evaluó a través de análisis de regresión simple y múltiple. Se utilizó el

paquete estadístico SPSS, versión 6.0, y se consideró nivel de significación estadística toda p ≤ 0,05. (17)

RESULTADOS

En los 165 sujetos de la población general se observó un aumento estadísticamente significativo en el diámetro (14,5%) y el flujo (50,3%) posisquemia. Tanto el diámetro como el flujo arterial en reposo

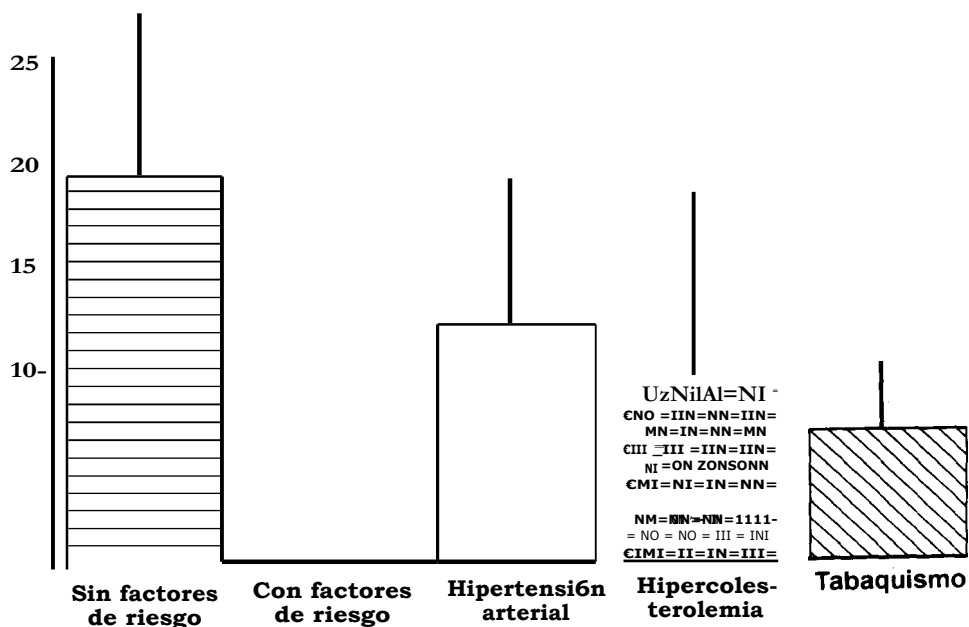


Fig. 1. Porcentaje de dilatación posisquémica de la arteria humeral en sujetos sin factores de riesgo, con factores de riesgo, con solamente hipertensión arterial, hipercolesterolemia y tabaquismo.

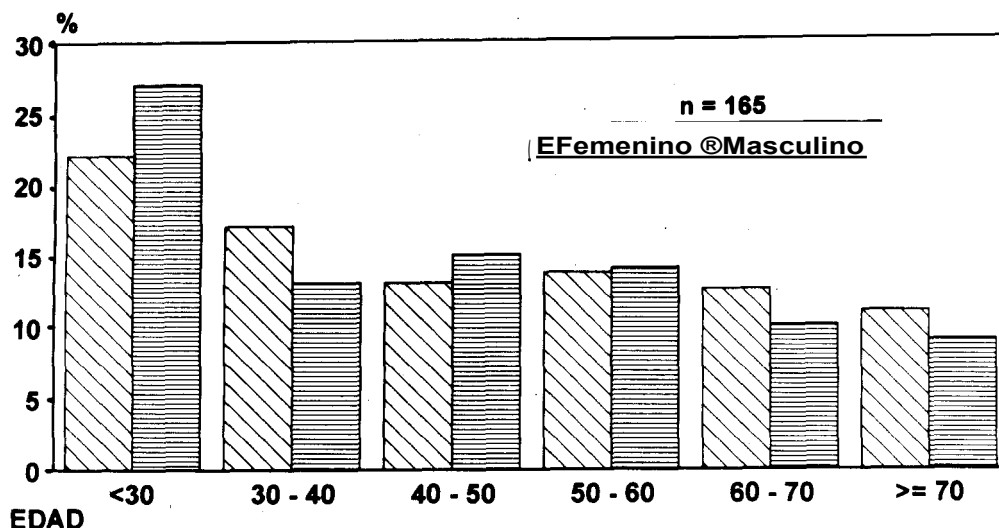


Fig. 2. Porcentaje de dilatacion posisquemica de la arteria humeral en la poblacion general segun sexo y edad.

fueron mayores en los hombres que en las mujeres, pero las respuestas posisquemicas fueron de magnitud semejante (Tabla 2).

Los sujetos sin factores de riesgo mostraron una dilatacion posisquemica mayor que los portadores de factores de riesgo, con diferencias significativas (19,1 versus 11,9%; $p < 0,002$). Con el flujo se observo igual tendencia, aunque la diferencia no alcanzó significación (63,1 versus 43,0%; NS) (Tabla 2).

De la misma forma que en la practica clinica diaria, los portadores de factores de riesgo del presente estudio referian varios de ellos simultaneamente. Para evaluar las consecuencias de cada factor de riesgo por separado fue necesario seleccionar grupos portadores de uno solo de ellos. De esta manera se redujo marcadamente el numero de sujetos para cada factor. Se evaluaron los sujetos normales contra los portadores de hipercolesterolemia ($n = 13$), tabaquis-

mo ($n = 12$) e hipertension ($n = 14$), y en todos ellos la diferencia, tanto del cambio del diametro como del flujo, fue estadisticamente significativa (Figura 1). El resto de los factores de riesgo no pudo ser valorado individualmente por carecerse de cantidad suficiente de sujetos con ese solo factor de riesgo para soportar un analisis estadistico apropiado (obesidad $n = 3$, sedentarismo $n = 1$).

El porcentaje de dilatacion arterial posisquemica fue mayor en los jovenes que en los seniles, observandose una reduccion progresiva de la respuesta con la edad. Estos cambios fueron muy homogeneos en los sujetos que no referian factores de riesgo (Figura 3), mientras que hubo cierta dispersion en la poblacion portadora de factores de riesgo, probablemente por la diferente respuesta de los mismos (Figura 2). Analizando los sujetos sin factores de riesgo se observa una mayor respuesta del sexo mascu-

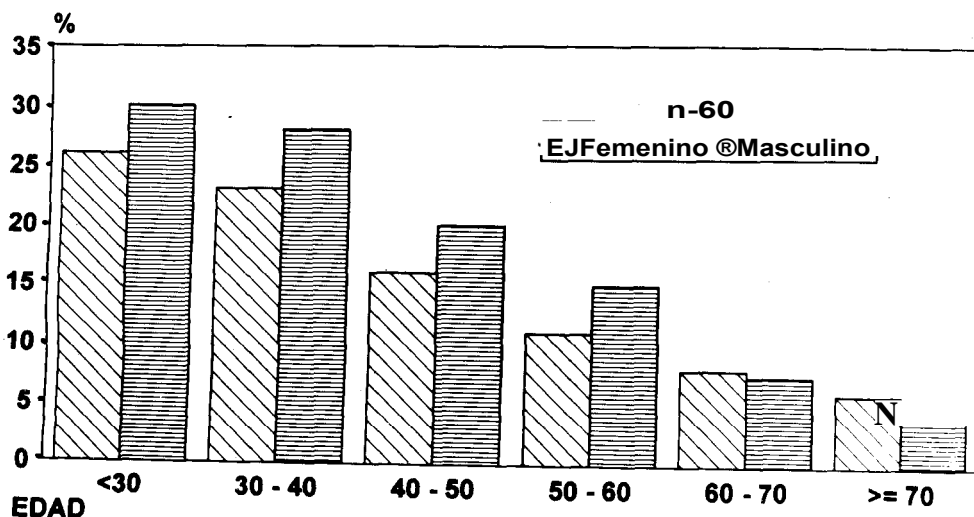


Fig. 3. Porcentaje de dilatacion posisquemica de la arteria humeral en sujetos sin factores de riesgo segun sexo y edad.

Tabla 3

Porcentaje de aumento de los diámetros y de los flujos arteriales posisquemia y posadministración de nitritos, en la población total, con y sin factores de riesgo (FR). Los valores están expresados como promedio \pm desvío estándar con la correspondiente significación estadística entre los mismos ($p <$)

	Aumento diámetro posisquemia (%)	Aumento diámetro posnitritos (%)	$p <$	Aumento flujo posisquemia (%)	Aumento flujo posnitritos (%)	p
Total (n = 165)	14,5 \pm 12	21,2 \pm 14	0,0001	50,3 \pm 66,6	70,2 \pm 49,4	0,005
Con FR (n = 105)	11,9 \pm 9	19,8 \pm 8	0,0001	43,0 \pm 46,9	69,4 \pm 51,5	0,001
Sin FR (n = 60)	19,1 \pm 15	22,3 \pm 12	0,01	63,1 \pm 90,4	72,7 \pm 39,7	0,05

lino, que se atenúa con la edad. Se realizó un análisis de regresión múltiple para el total de 165 pacientes, considerando como variable respuesta el cambio posisquemico del diámetro arterial y como variables independientes la edad, sexo y los factores de riesgo (hipercolesterolemia, hipertensión arterial y tabaquismo), resultando altamente significativo el aporte de la covariable edad.

En cuanto a las respuestas endotelio-independientes posadministración de nitritos, tanto el aumento del diámetro como del flujo fueron manifiestos respecto de los valores de reposo (21,2 \pm 14 y 70,2 \pm 49,4 respectivamente) y, en general, de mayor magnitud que la respuesta posisquemica, con valores semejantes en ambos grupos pero más evidente en los portadores de factores de riesgo (Tabla 3).

DISCUSION

Consideraciones técnicas

Por tratarse de una técnica reciente y nueva en nuestro medio, cabe la consideración de algunos de los aspectos de su realización. En los primeros 30 pacientes, y siguiendo las normas de los trabajos comunicados previamente, el registro posisquemia se realizó en forma continuada, grabándose en video desde los 15 segundos antes de la desinflación del manguito hasta los 2 minutos posteriores. (16, 18) Luego se procedió a la medición de todos los latidos, considerándose solo los valores máximos. Se observó que estos valores se alcanzaban entre los 15 y los 90 segundos posisquemia y que eran casi constantes entre estos tiempos, aunque progresivamente decrecientes, con una etapa media alrededor de los 60 segundos, causa por la cual no se encontró justificación para continuar con la medición de todos los latidos, que complicaba la simpleza de la técnica y significaba un consumo importante de tiempo, y en los siguientes pacientes se tomaron las mediciones inmediatamente posisquemia y a los 30, 60 y 90 segundos, considerándose el valor máximo. Si bien cabe la posibilidad de haber sobre o subdimensionado los resultados, las diferencias entre los pri-

meros 30 pacientes y los posteriores no fueron de magnitud, y por esta razón se continuó el estudio con esta nueva modalidad. No existe total consenso en la forma en que deben llevarse a cabo las mediciones en la presente prueba de función endotelial entre los diversos autores que se dedican a su estudio, (14,16,18) pero en las consultas personales, realizadas por los autores, aceptaron como lógica y práctica la medición cada 30 segundos (19, 20) y, en algunos casos, solamente a los 60 segundos. (21)

Otro aspecto a considerar es la medición de la luz arterial. En los trabajos originales, Celermajer y colaboradores (16, 22) aconsejaron medir entre las líneas "m" de la pared arterial, pero en la experiencia de los autores estas no siempre se visualizan con precisión, y es más sencillo y reproducible considerar la superficie interna de cada pared opuesta. Igualmente, los trabajos originales consideraron el flujo minuto, multiplicando el flujo latido por la frecuencia cardíaca. Los autores prefirieron considerar el flujo latido, tomando el promedio de 3 latidos. Una de las observaciones realizadas a estas técnicas es si se puede considerar la respuesta de la arteria humeral semejante a la coronaria. Se ha comprobado en las necropsias que ambas tienen igual cantidad de lesiones y placas aterosclerosas, (13) y las experiencias en humanos han demostrado que las respuestas de evaluación endotelial son semejantes, independientes de la edad, sexo y factores de riesgo, (12) considerándose a la arteria humeral "subrogante" de las coronarias. (13)

Sexo y edad

La vasodilatación posisquemia es producida por la presión de rozamiento (*shear stress*) de la corriente sanguínea que irrumpe bruscamente en el vaso, y es el principal estímulo que provoca la liberación de óxido nítrico por parte del endotelio. (3-5) En la población general la respuesta es mayor en los jóvenes y decrece progresivamente con la edad. (23) Además, habitualmente es mayor en las mujeres que en los hombres, aunque después de la quinta década en el sexo femenino disminuye más agudamente,

llegando a semejar a la de los hombres. (23) La mayor vasodilatación que se observa en los jóvenes es por una mejor capacidad del endotelio para producir y/o liberar óxido nítrico, hechos probados experimentalmente y en los estudios en humanos. (9-11) La mayor respuesta del sexo femenino se debe a la acción agonista de los estrógenos para la producción y/o liberación de óxido nítrico y, cuando disminuyen después de la menopausia, el endotelio pierde esta capacidad e iguala al sexo masculino de la misma edad. (24) La terapia supletoria con estrógenos en las mujeres menopáusicas ha provocado una mejor respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente (25) y la administración de estrógenos en individuos transexuales, pero genéticamente masculinos, produjo un aumento de la respuesta vasodilatadora que iguala a la femenina de la misma edad. (26, 27)

La presión de rozamiento (*shear stress*) es directamente proporcional a la velocidad del flujo e inversamente proporcional al cuadrado del radio. Esta es otra de las razones por la cual el sexo femenino, que habitualmente tiene arterias humerales más delgadas y de menor radio que el masculino, presenta una mayor dilatación. (22, 23)

En el presente estudio se observó una menor respuesta vasodilatadora posisquemia en las personas con mayor edad y en ambos sexos, tanto en los pacientes sin factores de riesgo como en aquellos que los padecían. Sin embargo, en la población femenina la vasodilatación fue en general menor que en la masculina, especialmente antes de la quinta década de la vida e independiente de la existencia de factores de riesgo, lo cual puede ser debido a las características de la población y al pequeño número de la muestra por décadas. Además, no se consideraron las magnitudes de los factores de riesgo en los diferentes sexos en cada década (por ejemplo: los niveles de colesterol, la cantidad de cigarrillos, las cifras de hipertensión arterial o su antigüedad, etc.) y no se realizaron dosajes hormonales en el sexo femenino. De todos modos, es una constante la menor respuesta vasodilatadora en relación con la edad, independientemente del sexo y de los factores de riesgo.

Factores de riesgo

Los factores de riesgo alteran la función endotelial, reduciendo su capacidad de producción y/o liberación de óxido nítrico. (28, 29) Ello se ha observado en la hipercolesterolemia, (14, 30) en el tabaquismo activo (31, 32) y pasivo, (33) en la hipertensión arterial, (15, 34, 35) diabetes, (36) hiperhomocisteinemia, (37) y hasta en los sujetos normales con antecedentes familiares coronarios. (38) En el presente estudio, los sujetos con factores de riesgo mos-

traron una significativa disminución de su capacidad vasodilatadora posisquémica. En algunos casos los pacientes presentaban un solo factor de riesgo, pero ello bastaba para diferenciarlos de los sujetos que no los presentaban. Nótese que los sujetos con factores de riesgo del presente estudio no manifestaban enfermedad vascular sintomática o demostrable, pero la prueba fue lo suficientemente sensible como para detectar disfunción endotelial, en forma independiente de la edad y sexo.

Para considerar la importancia de cada uno de los factores de riesgo en provocar disfunción endotelial se compararon aquellos portadores de uno solo de los factores de riesgo, y se observó que el tabaquismo y la hipercolesterolemia fueron los más nocivos. Se ha comprobado que la disfunción endotelial que provoca el tabaquismo está en relación directa con el número de cigarrillos consumidos diariamente y, una vez cesado el hábito, la función endotelial mejora pero no se recupera totalmente aun después de varios años. (31, 32) De igual manera, el fumador pasivo también es afectado y en relación proporcional a su contacto con el fumador activo. (33) En el presente estudio el número de fumadores no fue suficiente como para poder considerar la magnitud de la respuesta en relación con la cantidad de cigarrillos, pero los resultados en general no admiten dudas sobre lo pernicioso que significa el hábito tabaquico para la adecuada función endotelial.

Respecto de la hipercolesterolemia, múltiples estudios demuestran que reduce la respuesta endotelial y en relación directa con el nivel de colesterol. Mas aun, en los pacientes con niveles de colesterol considerado normal (colesterol < 200 mg% y LDL < 160 mg%), reducciones de estas cifras conducen a una mejor respuesta vasodilatadora del endotelio, creando la incertidumbre sobre cual es la cifra que se debiera considerar normal en un futuro próximo. (39) De todas maneras, el descenso de las cifras de colesterol, ya sea por dieta, reducción de peso o administración de fármacos, mejora la respuesta vasodilatadora endotelial. (40-43) La acción nociva de los lípidos sobre el endotelio también se ha comprobado con la hipertrigliceridemia, (21) especialmente la posprandial, por la liberación de radicales libres oxidantes, y se ha comprobado su corrección con altas dosis de antioxidantes como vitaminas C y E. (44,45)

La hipertensión arterial también altera la capacidad de respuesta vasodilatadora a la prueba de isquemia, indicando disfunción endotelial con pérdida de su capacidad de producir y/o liberar óxido nítrico. Esta respuesta se relaciona con la duración y la severidad de la afección. (15, 34, 35) En este estudio no se contó con cantidad suficiente de pacientes para relacionar duración y severidad, pero la res-

puesta vasodilatadora estuvo por debajo del estandar de los no portadores de factores de riesgo.

El óxido nítrico se sintetiza a partir de la L-arginina por medio de la enzima óxido nítrico sintetasa, y en muchos de los padecimientos que se acompañan de reducción de la vasodilatación arterial posisquémica se logra mejorar la respuesta con la administración de L-arginina, ya sea por vía parenteral u oral. (46-48) Si bien en los metaanálisis sobre el uso de la L-arginina algunos resultados son contradictorios, existe consenso general sobre su utilidad, especialmente en los hipercolesterolemicos, en la insuficiencia cardíaca y en algunos tipos de hipertensos. De igual manera, la reducción de la ingesta de L-arginina en la dieta puede conducir a una menor respuesta productora/liberadora de óxido nítrico. En el presente estudio no se realizó un control de contenido de L-arginina en la dieta ni la posibilidad de mejora de la respuesta luego de su administración, pero no es un factor que pueda justificar la homogénea y generalizada respuesta de los sujetos portadores de factores de riesgo, ni la de los no portadores.

Así como la sumatoria de factores de riesgo incrementa las posibilidades de padecer enfermedad coronaria, el mayor número de los mismos aumenta progresivamente el daño endotelial, disminuyendo la producción y/o liberación de óxido nítrico y, con ello, la respuesta vasodilatadora endotelio-dependiente. (49, 50)

Como la respuesta vasodilatadora se reduce con la edad, cabría el análisis de la misma en los diferentes grupos estudiados. La edad de ambos sexos es semejante y solamente se observa diferencia etaria entre las poblaciones con y sin factores de riesgo (Tabla 2). Este hecho es lógico, ya que los factores de riesgo se observan con mayor frecuencia en los sujetos de mayor edad, en especial la obesidad y el sedentarismo. Aun así, la diferencia es estadísticamente muy significativa y excede la variable edad. Por otra parte, los fumadores, que mostraron la menor respuesta a la isquemia, son el grupo poblacional con menor edad. Y, por último, en el análisis de regresión múltiple, la edad se mostró independiente de los factores de riesgo y viceversa.

Respuesta endotelio-independiente

La administración de nitritos constituye un aporte extra de óxido nítrico, independiente del estado funcional del endotelio, que activa la guanilciclase y libera GMP cíclico, responsable de la relajación del músculo liso de la pared arterial y de la consecuente vasodilatación. Por esta razón, la acción de los nitritos es independiente del estado funcional del endotelio. Teóricamente, la respuesta vasodilatadora debería ser máxima. Sin embargo, en la

experiencia de los diferentes grupos de trabajo, la respuesta en los portadores de factores de riesgo es ligeramente menor que en los normales. Esta respuesta podría estar condicionada por las diferentes edades de los grupos o por el mayor grado de patología de los que presentan factores de riesgo; de todos modos, la diferencia no suele ser significativa. (16, 18, 25) La importancia de la consideración de los resultados después de la administración de nitroglicerina estriba en que es la probatoria de que la respuesta anormal es debida a la disfunción endotelial y no a otros factores. En el presente estudio, en todos los casos se produjo un incremento en el diámetro arterial y en el flujo que superó a la vasodilatación posisquémica, con mayores diferencias en los portadores de factores de riesgo (Tabla 3). En la experiencia de los autores, solamente han registrado una reducción importante de la respuesta independiente en los cuadros isquémicos agudos, probablemente debido a la liberación de sustancias que alteran la génesis de GMP cíclico, tanto endoteliales como plaquetarias, o producto de la isquemia miocárdica, como citoquinas, hormonas adrenergicas, serotonina, etc. (51)

El estudio del estado funcional del endotelio es de singular importancia diagnóstica y terapéutica. La utilidad de detectar su disfunción temprana permite indicar prevención primaria o profilaxis secundaria y, además, facilita la evaluación de las medidas terapéuticas adecuadas. Es primordial su adecuado funcionamiento para evitar la formación de la placa aterosclerótica y/o su posterior accidente. (52, 53) El mismo está íntimamente ligado a su capacidad de producción y/o liberación de óxido nítrico, molécula considerada antiaterosclerótica por sus múltiples funciones en todas las etapas de esta enfermedad, desde la formación de la placa hasta su accidente, (3-8) y que se evidencia fácilmente a través de su actividad vasodilatadora. Luego, la evaluación de la función endotelial es un método diagnóstico de sumo valor como predictor preventivo y para evaluar las distintas modalidades terapéuticas.

La acción nociva de los factores de riesgo, conocida desde hace casi medio siglo y fácilmente demostrable con la presente prueba, atañe no solo al médico especializado sino al generalista de primer nivel, de la importancia de su profilaxis a cualquier edad, en ambos sexos, y con toda energía. No importan los parámetros de normalidad fijados, se debe tratar de superarlos cuando sea posible, en especial la hipercolesterolemia (39) y la hipertrigliceridemia. (21)

CONCLUSIONES

La presente prueba de evaluación de la función endotelial es incruenta, al alcance de cualquier centro cardiológico e, inclusive, de un consultorio me-

dico equipado adecuadamente, y permite evaluar la función endotelial, así como el seguimiento de las terapéuticas que se indiquen según el caso y, posiblemente, estratificar el riesgo individual y poblacional. Si bien, dado lo reciente de su comunicación, se carece de estudios de seguimiento a largo plazo controlados con esta técnica, su estrecho contacto con mecanismos biológicos básicos y la lógica de su respuesta permiten suponer que será de suma utilidad a través del tiempo.

SUMMARY

ENDOTHELIAL FUNCTION ASSESSMENT BY ULTRASONOGRAPHY. EFFECT OF AGE, SEX AND CARDIOVASCULAR RISK FACTORS

Background

The hyperemic flow is the responsible for the endothelium-dependent post-ischemic vasodilation through the nitric oxide release in the brachial artery. The aim of the present study was to assess the endothelium-dependent arterial dysfunction in a general population without symptoms or clinical manifestation of cardiovascular disease, with or without cardiovascular risk factors, and the influence of age, sex and the cardiovascular risk factors.

Material and method

Brachial artery diameter and flow were measured by echo-Doppler ultrasonography before and after reactive hyperemia in 165 subjects (mean age 52.15 ± 16.59 years), 87 men, 60 of them without cardiovascular risk factors and 105 with high cholesterol (LDL > 160 mg%), smoking (+ 1 cigarette daily), arterial hypertension ($> 140/90$ mmHg), obesity (body mass index > 30) and sedentarism. After allowing the return to baseline, 0.3 mg sublingual nitroglycerin was administered and brachial artery diameter and flow were measured again. Multiple comparisons were made by ANOVA and matched comparisons by "t" test and Mann Whitney test. Simple and multiple linear regression were performed to evaluate age changes.

Results

In general population post-ischemic arterial diameter increased by $14.5 \pm 12\%$, $p < 0.001$ (men $14.2 \pm 14\%$, women $14.9 \pm 10\%$, NS), and flow by $50.3 \pm 66.6\%$ (men 50.8 ± 74.3 , women $41.8 \pm 57.3\%$, NS). In 60 subjects with no risk factors arterial diameter increased by $11.9 \pm 9\%$ while in 105 subjects with one or more risk factors arterial diameter increased by $19.1 \pm 15\%$ ($p < 0.002$). Arterial dilatation was impaired principally by: smoking 6.41% ($p < 0.0005$), high cholesterol 9.14% ($p < 0.001$) and hypertension 11.7% ($p < 0.01$). Post-ischemic arterial

dilatation was independently related to age. Post nitroglycerin diameter and flow increased significantly, with the same magnitude in both groups.

Conclusions

Post-ischemic vasodilation and hyperemic flow of the brachial artery assess endothelial function. Cardiovascular risk factors showed lower response of the reactive hyperemia in subjects with no symptoms or clinical manifestation of cardiovascular disease. The response was highly impaired mainly in smokers, hypercholesterolemic and hypertensive subjects. The vasodilation showed decrease values with age, independent of sex or cardiovascular risk factors. Artery responses to endothelium-dependent dilation is a non-invasively and reproducible technique, that permits detect cardiovascular risk for primary and secondary prevention treatments.

Key words Atherosclerosis - Endothelium - Echo-Doppler - Risk-factors - Vasodilation - Hypercholesterolemia - Smoking - Hypertension

BIBLIOGRAFIA

1. Furchgott RF, Zawadzki JV The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980; 228: 373-376.
2. Furchgott RP. Studies on relaxation of rabbit aorta by sodium nitrite: the basis for the proposal that the acid activatable inhibitory factor from retractor penis is inorganic nitrite and the endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide. En: Vanhoutte PM (ed). *Vasodilatation: vascular smooth muscle, peptides, and endothelium*. New York, Raven Press, 1988; 401-418.
3. Loscalzo J, Welch G. Nitric oxide and its role in the cardiovascular system. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38: 87-104.
4. Cohen RA. The role of nitric oxide and other endothelium-derived vasoactive substances in vascular disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1995; 38: 105-128.
5. Wennmalm A. Endothelial nitric oxide and cardiovascular disease. *J Intern Med* 1994; 235: 317-327.
6. Furchgott RE The discovery of endothelium-derived relaxing factor and its importance in the identification of nitric oxide. *JAMA* 1996; 276:1186-1188.
7. Rubanyi GM. The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and disease. *J Cardiovasc Pharmacol* 1993; 22 (Suppl 4): S1-S14.
8. Rubanyi GM, Dzau VJ. *The endothelium in clinical practice*. New York, Marcel Dekker, Inc, 1997.
9. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL y col. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med* 1986; 315: 1046-1051.
10. Drexler H, Zeiler AM, Wollschlaeger T y col. Flow-dependent coronary artery dilatation in humans. *Circulation* 1989; 80: 466-474.
11. Werns SW, Walton JA, Hsia HH y col. Evidence of endothelial dysfunction in angiographically normal coronary arteries of patients with coronary artery disease. *Circulation* 1989; 79: 287-291.
12. Anderson TJ, Uehata A, Gerard MD y col. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulation. *J Am Coll Cardiol* 1995; 26: 1235-1241.
13. Sorensen KE, Kristensen IB, Celermajer DS. Atherosclero-

- sis in the human brachial artery. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 318-322.
14. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME y col. Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.
 15. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr y col. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-27.
 16. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM y col. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992; 340:1111-1115.
 17. Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. Iowa, Iowa State University Press, 1986.
 18. Corretti MC, Plotnik GD, Vogel RA. Technical aspects of evaluating brachial artery vasodilatation using high-frequency ultrasound. *Am J Physiol* 1995; 268: H1397-H1404.
 19. Creager MA. Comunicacion personal, 1997.
 20. Corretti MC. Comunicacion personal, 1997.
 21. Lundman P, Eriksson M, Schenk-Gustafsson K y col. Transient triglyceridemia decreases vascular reactivity in young, healthy men without risk factors for coronary artery disease. *Circulation* 1997; 96: 3266-3268.
 22. Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ y col. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995; 74: 247-253.
 23. Celermajer DS, Sorensen KE, Spiegelhalter DJ y col. Aging is associated with endothelial dysfunction in healthy men years before the age-related decline in women. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 471-476.
 24. Williams JK, Adams MR, Klopfenstein HS. Estrogen modulates responses of atherosclerotic coronary arteries. *Circulation* 1990; 81: 1680-1687.
 25. Lieberman EH, Gerhard MD, Uehata A y col. Estrogen improves endothelium-dependent, flow-mediated vasodilation in postmenopausal women. *Ann Intern Med* 1994; 121: 936-941.
 26. McCrohon JA, Walters WAW, Robinson JTC y col. Arterial reactivity is enhanced in genetic males taking high dose estrogens. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 1432-1436.
 27. New G, Timmins KL, Duffy SJ y col. Long-term estrogen therapy improves vascular function in male to female transsexuals. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 1437-1444.
 28. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C y col. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24: 1468-1474.
 29. Zeiher AM, Drexler H, Saurier B y col. Endothelium-mediated coronary blood flow modulation in humans: effect of age, atherosclerosis, hypercholesterolemia, and hypertension. *J Clin Invest* 1993; 92: 652-662.
 30. Creager MA, Cooke JP, Mendelsohn ME y col. Impaired vasodilatation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1990; 86: 228-234.
 31. Celermajer DS, Sorensen KE, Georgakopoulos D y col. Cigarette smoking is associated with dose-related and potentially reversible impairment of endothelium-dependent dilating healthy young adults. *Circulation* 1993; 88: 2149-2155.
 32. Zeiher A, Schachinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary vasodilator function. *Circulation* 1995; 92: 1094-1100.
 33. Celermajer DS, Adams MR, Clarkson P y col. Passive smoking and impaired endothelium-dependent arterial dilatation in healthy young adults. *N Engl J Med* 1996; 334:150-154.
 34. Panza JA, Casino PR, Kilcoyne CM y col. Role of the endothelium-derived nitric oxide in the abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1993; 87: 1468-1474.
 35. Panza JA, Quyyumi AA, Callahan TS y col. Effect of anti-hypertensive treatment of endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *J Am Coll Cardiol* 1993; 21: 1145-1151.
 36. Johnstone MT, Creager SJ, Scales KM y col. Impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation* 1993; 88:2510-2516.
 37. Celermajer DS, Sorensen K, Ryalls M y col. Impaired endothelial function occurs in the systemic arteries of children with homozygous homocystinuria but not in their heterozygous parents. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 854-858.
 38. Clarkson P, Celermajer D, Powe AJ y col. Endothelium-dependent dilatation is impaired in young healthy subjects with a family history of premature coronary disease. *Circulation* 1997; 96: 3378-3383.
 39. Creager MA, Selwyn A. When "normal" cholesterol levels injure the endothelium. *Circulation* 1997; 96: 3255-3257.
 40. Egashira K, Hirooka Y, Kai H y col. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994; 89: 2519-2524.
 41. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS y col. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1995; 332: 481-487.
 42. Anderson TJ, Meredith IT, Yeung AC y col. The effects of cholesterol-lowering and antioxidant therapy on endothelium-dependent coronary vasomotion. *N Engl J Med* 1995; 332: 488-493.
 43. Gilligan DM, Sack MN, Guetta V y col. Effect of antioxidant vitamins on low density lipoprotein oxidation and impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 1994; 24:1611-1617.
 44. Levine GN, Frei B, Koulouris SN y col. Ascorbic acid reverses endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1996; 93: 1107-1113.
 45. Solzbach U, Hornig B, Jeserich M y col. Vitamin C improves endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in hypertensive patients. *Circulation* 1997; 96: 1513-1519.
 46. Creager MA, Gallagher SJ, Girerd XJ y col. L-arginine improves endothelium-dependent vasodilation in hypercholesterolemic humans. *J Clin Invest* 1992; 90: 1248-1253.
 47. Drexler H, Zeiher AM, Meinertz T y col. Correcting endothelial dysfunction in coronary microcirculation of hypercholesterolemic patients by L-arginine. *Lancet* 1991; 338: 1546-1550.
 48. Clarkson D, Adams MR, Powe A y col. Oral L-arginine improves endothelium-dependent dilation in hypercholesterolemic young adults. *J Clin Invest* 1996; 97:1989-1994.
 49. Esper RJ, Vilarino J, Cacharr6n JL y col. Impaired endothelial function in unstable angina. *J Am Coll Cardiol*, 1998 (a publicar).
 50. Panza JA. Endothelial dysfunction in essential hypertension. *Clin Cardiol* 1997; 20 (Suppl 11): 11-26-11-33.
 51. Cardillo C, Kilcoyne C, Quyyumi AA y col. Selective defect in nitric oxide synthesis may explain the impaired endothelium-dependent vasodilation in patients with essential hypertension. *Circulation* 1998; 97: 851-856.
 52. Falke, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995; 92: 657-671.
 53. Gordon JB, Ganz P, Nabel EG y col. Atherosclerosis and endothelial function influence the coronary vasomotor response to exercise. *J Clin Invest* 1989; 83: 1946-1952.