

La velocidad de la onda del pulso como método para evaluar la función endotelial

EDUARDO J. RUSAK[†], CLAUDIO A. BELLIDO^{MTSAC}, OSCAR R. IAVÍCOLI, SONIA T. VÁZQUEZ, MARIANO DUARTE,
JORGE LERMAN^{MTSAC}

Recibido: 19/10/2009
Aceptado: 12/11/2009

Dirección para separatas:

Dr. Eduardo J. Rusak
Laboratorio de Hipertensión
Arterial de la División
Cardiología
Hospital de Clínicas
"José de San Martín"
Av. Córdoba 2350 - 7° piso -
Sala 6
(1116) Ciudad Autónoma
de Buenos Aires - Argentina
Tel. 54-11-5950-8950
e-mail: erusak@arnet.com.ar

RESUMEN

Introducción

La disfunción endotelial está presente precozmente en la aterosclerosis y constituye la base fisiopatológica de ella y de la enfermedad cardiovascular (CV). La función endotelial puede estudiarse por ultrasonografía, que permite observar la vasodilatación mediada por flujo (VMF). También puede evaluarse por el cambio en la velocidad de la onda del pulso (VOP), que de acuerdo con la ecuación de Moens-Korteweg concuerda con los resultados obtenidos por otros métodos.

Objetivos

Investigar la función endotelial a través de las variaciones de la velocidad de la onda del pulso (VOP) carótido-radial preinducción y posinducción de isquemia braquial.

Material y métodos

La VOP carótido-radial se determinó en 248 pacientes hipertensos (160 mujeres, $63,6 \pm 12,3$ años y 88 hombres, $63,1 \pm 11,6$ años) y en 56 normotensos (38 mujeres, $63,1 \pm 12,6$ años y 18 hombres, $56,1 \pm 13,7$ años). Se consideró respuesta endotelial normal la reducción de la VOP $> 5\%$. En pacientes con respuesta anormal se realizó la medición luego de la administración de 5 mg de dinitrato de isosorbide sublingual con el objeto de registrar la vasodilatación no dependiente del endotelio como forma de validación del método.

Resultados

La VOP se redujo el 9,3% en promedio en el grupo de sujetos sanos, mientras que en los pacientes esta reducción fue de sólo el 1,5% ($p < 0,0005$). La reducción de la VOP con dinitrato de isosorbide sublingual fue aún mayor que la de los individuos normales (18,2%) ($p < 0,0001$).

Conclusiones

La medición de la VOP carótido-radial preinducción y posinducción de isquemia discriminó el comportamiento endotelial entre personas normotensas e hipertensas. Este hallazgo consolida su utilidad para la medición de la función endotelial.

REV ARGENT CARDIOL 2010;78:17-22.

Palabras clave > Endotelio / Fisiología - Hipertensión - Flujo pulsátil / Fisiología

Abreviaturas >

CV	Cardiovascular	NO	Óxido nítrico
DE	Desviación estándar	PAD	Presión arterial diastólica
DNIS	Dinitrato de isosorbide sublingual	PAS	Presión arterial sistólica
FC	Frecuencia cardíaca	VMF	Vasodilatación mediada por flujo
MLV	Músculo liso vascular	VOP	Velocidad de la onda del pulso

INTRODUCCIÓN

El endotelio es un órgano paracrino sensible a estímulos exógenos y endógenos. Diferentes mecanismos, que involucran receptores de membrana y de transducción intracelular, producen la liberación de una

gran cantidad de sustancias que intervienen en la regulación del tono vascular y el crecimiento celular, así como en las interacciones entre las plaquetas y los leucocitos y en los mecanismos de la coagulación.

La disfunción endotelial es un factor fisiopatológico importante en la aterosclerosis, que se reconoce como

Trabajo elegido para optar al Premio Fundación Dr. Pedro Cossio

Laboratorio de Hipertensión Arterial de la División Cardiología. Hospital de Clínicas "José de San Martín", Universidad de Buenos Aires, Argentina

^{MTSAC} Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

[†] Para optar a Miembro Titular de la Sociedad Argentina de Cardiología

un mecanismo para su desarrollo y las consecuencias resultantes de la aterosclerosis, como es la enfermedad cardiovascular (CV). (1) Resulta importante la detección precoz de esta anomalía para establecer medidas terapéuticas adecuadas a fin de evitar o al menos retrasar las complicaciones futuras de la enfermedad.

Recientemente se han desarrollado procedimientos no invasivos para evaluar la vasodilatación mediada por flujo (VMF), función dependiente del endotelio fácilmente analizable en las arterias del miembro superior. La capacidad de los vasos para responder a estímulos físicos y químicos les permite regular el tono vascular. Muchos vasos responden al aumento del flujo o más precisamente al estrés de estiramiento (*shear stress*) con dilatación. La isquemia provocada por la compresión de estos vasos y sostenida al menos durante cinco minutos es capaz de poner en marcha, luego de la liberación del flujo, y como respuesta local al incremento de éste, los mecanismos de liberación del óxido nítrico (NO) que, en condiciones de normalidad, provoca vasodilatación que puede graficarse y cuantificarse. Este fenómeno es un índice fidedigno de la función endotelial vasomotora. (1)

El estímulo producido por la descompresión normalmente libera NO, que produce relajación del músculo liso vascular (MLV). Esto dilata el vaso ocasionando un descenso de la VOP, que puede medirse en forma no invasiva con ultrasonido o con tonometría computarizada (Complior®), método que también permite determinar la evolución de la distensibilidad arterial –aórtica– en pacientes hipertensos tratados. (2, 3)

El descenso de la VOP puede explicarse por medio de la ecuación de Moens-Korteweg. Por esta fórmula, la VOP es directamente proporcional al espesor de la pared vascular y al módulo de Young, que establece la relación entre las actividades de elastina y colágeno (rigidez arterial) e inversamente proporcional al diámetro del vaso y la viscosidad de la sangre. A mayor espesor y rigidez de la pared, mayor va a ser la VOP y a mayor diámetro del vaso y densidad del fluido, la VOP va a ser menor. El aumento del diámetro arterial luego de la VMF dependiente del endotelio se acompaña con disminución de la VOP. (4)

Ecuación de Moens-Korteweg

$$Vop = \sqrt{\frac{E \cdot h}{2 \cdot R \cdot \delta}}$$

El propósito de este estudio fue determinar la función endotelial de sujetos hipertensos por medio de la medición de la VOP carótido-radial antes y después de la prueba de inducción de isquemia en la arteria braquial.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se determinó la VOP carótido-radial preinducción y posinducción de isquemia de la arteria braquial para evaluar la función endotelial en 304 sujetos hipertensos (grupo 1) y normotensos (grupo 2). El grupo 1 incluyó 248 pacientes con una edad promedio de 63,4 ± 12,0 años (rango 31-86), de los cuales 160 eran mujeres (edad 63,6 ± 12,3 años; rango 31-86) y 88 hombres (edad 63,1 ± 11,6 años; rango 32-86). En el grupo 2 se incluyeron 56 normotensos con una edad promedio de 60,9 ± 13,3 años, 38 mujeres (edad 63,1 ± 12,6 años; rango 42-84) y 18 hombres (edad 56,1 ± 13,7 años; rango 32-79) (Tabla 1).

La mayoría de los pacientes del grupo 1 se encontraban tratados, especialmente con fármacos antagonistas del sistema renina-angiotensina. Los pacientes se estudiaron en ayunas y sin la medicación en caso de que estuvieran tratados.

Medición de la presión arterial

Las presiones sistólica (PAS) y diastólica (PAD) se midieron tres veces con un esfigmomanómetro anerode certificado (Tycos, Welch Allyn, USA) antes de cada determinación de la VOP. La PAS y la PAD se definieron con las fases 1 y 5 de Korotkoff, respectivamente. El manómetro se desinfló a un ritmo de 2 mm Hg por segundo. Los pacientes comenzaron el estudio luego de 10 minutos de reposo en posición supina.

Determinación de la velocidad de la onda del pulso

La VOP carótido-radial se determinó mediante el dispositivo computarizado no invasivo Complior® (Colson AS, París, Francia), que permite un registro continuo de la onda del pulso y calcula en forma automática la VOP. La validación de este método automático y su reproducibilidad se publicaron previamente. (2, 5)

La respuesta de la VOP carótido-radial a la isquemia inducida se consideró normal cuando se producía una reducción ≥ 5% con respecto a los valores basales. La respuesta se consideró anormal ante reducciones menores o con respuesta paradójica (incremento de la VOP) al estímulo de hiperemia posisquémica. Para confirmar que el fenómeno estaba relacionado con la función endotelial (VMF), en un grupo de pacientes con respuesta anormal se repitió la medición de la VOP luego de la administración de un fármaco vasodilatador directo (dinitrato de isosorbide sublingual -DNIS-) para evaluar la vasodilatación no dependiente del endotelio. (6)

Análisis estadístico

Los valores se expresaron como promedio ± desviación estándar (DE). Se realizó el análisis comparativo de la po-

Tabla 1. Características de la población

	Población	Edad	H	Edad	M	Edad
Total	304	63,0 ± 12,3	106	61,7 ± 12,3	198	63,5 ± 13,2
Grupo 1	248	63,4 ± 12,0	88	63,1 ± 11,6*	160	63,6 ± 12,3
Grupo 2	56	60,9 ± 13,3	18	56,1 ± 13,7**	38	63,1 ± 12,6*

Edad expresada en años ± DE. H: Hombres. M: Mujeres. * p < 0,05. ** p < 0,05.

blación general de ambos grupos. Asimismo, se determinó el promedio y la DE de cada grupo y se realizó la prueba de la *t* de Student para evaluar la significación estadística y MANOVA para confirmar los resultados. Se realizó también un análisis multivariado que incluyó edad y PAS basales. Se estimó estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$ en el análisis general y $< 0,025$ para el multivariado.

RESULTADOS

Las variables antropométricas fueron similares en ambos grupos, excepto la circunferencia de la cintura y el índice de masa corporal, que fueron significativamente menores en el grupo 2 (Tabla 2). La presión arterial también fue menor en el grupo 2, tanto en las mediciones preischemia como posischemia. Las frecuencias cardíacas (FC) fueron similares en ambos grupos.

La VOP carótido-radial en el grupo 2 descendió el 9,3% (Figura 2 A) respecto de la medición inicial ($7,7 \pm 0,3$ m/seg - $6,9 \pm 0,4$ m/seg) (Figura 1), con significación estadística ($p < 0,00001$). Estos resultados se utilizaron para la comparación con el grupo 1 y con los sujetos a los que se les realizó la prueba de validación con DNIS.

En el grupo 1 se observó un descenso de la VOP del 1,5%, sin significación estadística ($7,9 \pm 0,4 / 7,7 \pm 0,4$) (Figura 1). Las PAS, la PAD y la FC permanecieron sin cambios significativos durante el transcurso del estudio.

En los individuos hipertensos a los que se les realizó la prueba de vasodilatación directa con DNIS, a los cinco minutos de la toma del fármaco se observó un descenso del 18,2% de la VOP ($8,2 \pm 0,4 / 7,1 \pm 0,4$), estadísticamente significativo ($p < 0,0001$), y aún mayor que el descenso posischemia inducida de los sujetos sanos (Figura 2 A). La PAS evidenció un descenso leve que, sin embargo, resultó significativo ($p < 0,001$), mientras que la PAD y la FC no mostraron variaciones significativas. Los valores iniciales entre ambos grupos fueron diferentes, ya que el grupo 1 estuvo constituido por hipertensos y el grupo 2 por normotensos. Al analizar los resultados separando los grupos etarios se observó que en el grupo 1 los menores de 65 años no presentaban un descenso significativo de la VOP ($8,5 \pm 0,4 / 7,9 \pm 0,4 / -0,7\%$), mientras que en los mayores de 65 años el descenso fue levemente mayor ($7,8 \pm 0,4 / 7,5 \pm 0,4 / -2,2\%$), pero sin significación estadística. En el grupo 2, los sujetos más jóvenes tuvieron un descenso importante de la VOP ($7,6 \pm 0,4 / 6,8 \pm 0,3 / -10,3\%$) con significación

estadística ($p < 0,0005$), mientras que en los mayores de 65 años la diferencia fue menor ($7,7 \pm 0,3 / 7,1 \pm 0,4 / -7,3\%$). Al analizar los grupos etarios por sexo (Figura 2 B y C), tampoco se observaron diferencias significativas en el descenso de la VOP entre hombres hipertensos menores de 65 ($-2,8\%$) y mayores de 65 años ($-4,1\%$), mientras que en las mujeres hipertensas, las más jóvenes mostraron un comportamiento paradójico de la VOP ($+0,5\%$) y las mayores de 65 años un ligero descenso ($-1,3\%$). En el grupo 2, en cambio, los hombres, si bien mostraron un descenso de la VOP mayor que el del grupo 1, no resultó estadísticamente significativo en los menores de 65 años ($-4,5\%$) ni en los mayores ($-7,2\%$). Por el contrario, las mujeres del grupo 2 mostraron un importante y estadísticamente significativo descenso de la VOP, especialmente las más jóvenes ($-14,4\%$), mientras que en las mayores el descenso fue menor (-8%). Aunque se observaron variaciones del comportamiento de la VOP en los diferentes subgrupos de pacientes, el análisis multivariado del total de los sujetos sometidos a estudio no mostró correlación con la PAS inicial ni con su edad.

DISCUSIÓN

Este estudio presenta un método novedoso para evaluar la función endotelial por medio de la VOP carótido-radial ante la vasodilatación posischemia. Nuestro método consiste en una modificación de observaciones que, por medio de la ultrasonografía, permitieron cuantificar la vasodilatación luego de estímulos similares. (5)

Encontramos diferencias significativas entre las poblaciones de hipertensos y normotensos independientemente del grupo etario o de la PAS basal, lo que demuestra la importancia que tiene la hipertensión sobre el desarrollo de los cambios estructurales y funcionales de las arterias. También observamos diferencias importantes entre ambos sexos en cuanto a la VMF. Nuestros resultados evidenciaron una diferencia significativa de la VMF entre mujeres normotensas e hipertensas, que no resultó significativa en la población masculina. Los varones normotensos tuvieron una VMF menos pronunciada que las mujeres normotensas luego de la isquemia inducida. Además, también encontramos diferencias entre ambos sexos en el grupo de hipertensos, ya que las mujeres evidenciaron un compromiso más grave que los varones, con significación estadística. Llamativamente,

Tabla 2. Variables antropométricas

	Peso (kg)	Talla (cm)	Cintura (cm)	Caderas (cm)	IMC (kg/m ²)
p	ns	ns	$< 0,005$	ns	$< 0,05$
Grupo 1	$74,2 \pm 15,6$	$162,9 \pm 8,9$	$96,1 \pm 12,2$	$101,8 \pm 11,4$	$27,8 \pm 4,9$
Grupo 2	$69,4 \pm 10,1$	$162,7 \pm 8,5$	$90,4 \pm 8,6$	$99,4 \pm 7,1$	$25,8 \pm 3,2$

Valores expresados en promedios \pm DE. IMC: Índice de masa corporal.

este hallazgo fue más pronunciado entre las mujeres más jóvenes respecto de las de edad más avanzada. Por lo tanto, consideramos que las mujeres normotensas presentan una VMF más acentuada que los varones. Por el contrario, pudimos intuir que el daño vascular en el sexo femenino fue más evidente que el de los varones entre los hipertensos. Este hecho podría ser una explicación para la mayor frecuencia de enfermedad CV entre los varones y su mayor gravedad cuando ocurre en el sexo femenino. No obstante, consideramos que estas observaciones deberán estudiarse en el futuro con poblaciones más numerosas.

El procedimiento automático para la medición de la VOP ofrece una simplificación metodológica en comparación con la ultrasonografía. El coeficiente de reproducibilidad interobservador e intraobservador de la VOP es elevado, por lo que se considera un método altamente confiable. (5)

Se han utilizado diferentes procedimientos para determinar el estado del endotelio desde el punto de vista estructural y funcional. La medición del espesor íntima-media carotídea, por la ecografía en modo B, es el método no invasivo más sensible y reproducible para identificar las alteraciones de la pared arterial que también involucran las alteraciones del endotelio. Este método tiene buena correlación con el aumento del riesgo CV. (7, 8) La disfunción endotelial es el denominador común de numerosos procesos patológi-

cos que se relacionan con el estrés oxidativo, la inflamación y la vía final común, que es la aterosclerosis y sus complicaciones. El reconocimiento de las alteraciones de la función endotelial constituye un paso fundamental para establecer la magnitud del riesgo CV y actuar en consecuencia. La presencia de alguno o varios de los factores de riesgo conocidos se asocia con disfunción endotelial, caracterizada en especial por vasoconstricción en lugar de vasodilatación, por anulación funcional del NO ante la presencia de estrés oxidativo y especies reactivas del oxígeno. Estas últimas se combinan con el NO y producen peroxinitritos, agentes altamente oxidantes, factor etiológico de la aterosclerosis en sus etapas iniciales.

El fenómeno observado durante el estudio se relaciona con las alteraciones funcionales y estructurales de la pared arterial, ya que responde a las variaciones del diámetro del vaso estudiado, así como a las características del componente que contiene (la sangre), tal como se explica a través de la ecuación de Moens-Korteweg, ya mencionada. (4)

Los individuos normotensos o aquellos con arterias indemnes responden a la isquemia inducida con descenso de la VOP luego de cinco minutos de compresión braquial, mientras que los pacientes hipertensos no responden con tal descenso o su respuesta es paradójica, con aumento de la VOP.

La disminución de la elasticidad arterial aparece como un proceso relacionado con el envejecimiento, de tal forma que el aumento de la VOP comienza a hacerse más evidente a partir de la sexta década de la vida. (9) Recientemente, diferentes estudios clínicos y epidemiológicos han mostrado que la VOP predice en forma independiente el riesgo cardiovascular en la población general. (10) Es bien sabido que el endotelio cumple un papel obligado en la regulación del tono vasomotor (11) y, por lo tanto, en la regulación de la función vascular. Las alteraciones funcionales, y en cierta medida también las estructurales del endotelio, se han estudiado mediante la determinación de los cambios del diámetro de las arterias. Por ello se ha considerado que la alteración de la VMF refleja la de otras importantes funciones del endotelio. (12)

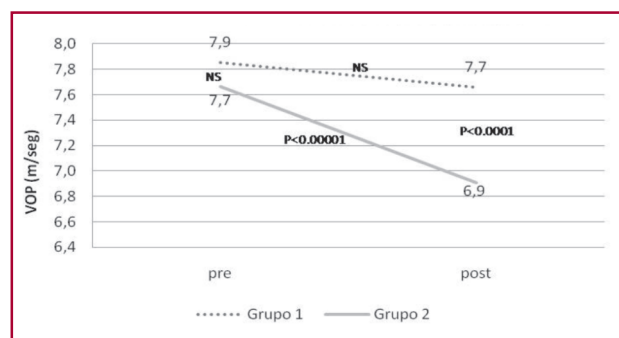


Fig. 1. Velocidad de la onda del pulso preisquemia y posisquemia.

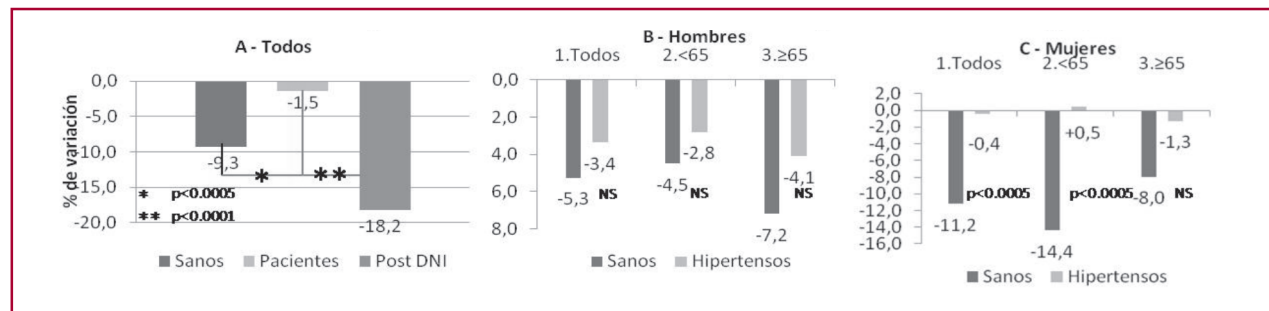


Fig. 2. Porcentaje de variación de la velocidad de la onda del pulso de acuerdo con los grupos.

El NO derivado del endotelio es el mediador más importante de la vasodilatación (13) y tiene propiedades antiinflamatorias y antitrombóticas, como, por ejemplo, inhibición de la adhesión leucocitaria, adhesión y agregación plaquetaria y expresión del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). (14-16)

Los datos acumulados sugieren que el grado de deterioro de la VMF y, por lo tanto, de la función endotelial, tiene implicaciones profundas en el pronóstico, independientemente de otros factores de riesgo que pudieran coexistir. Este deterioro está relacionado con la producción de especies reactivas del oxígeno y procesos inflamatorios vinculados particularmente con la proteína C reactiva. Estos hallazgos significan que el estudio de la función endotelial se puede utilizar en la práctica para la identificación de pacientes de alto riesgo. (17, 18)

La determinación de la función endotelial por medio de la VOP preinducción y posinducción de isquemia surge como complemento de la estimación del riesgo CV establecido por la rigidez aórtica, aun cuando no se encuentran necesariamente relacionados. Estudios previos que incluyeron una escasa cantidad de sujetos sanos mostraron, a través de mediciones de la VOP por otro método, la correspondencia de la función endotelial con los diferentes grados de dilatación de las arterias estudiadas. (19) El nuestro es un estudio que compara sujetos normotensos e hipertensos que fueron estudiados mediante un método sencillo como es la VOP carótido-radial preinducción y posinducción de isquemia con el sistema Complior®. En nuestras determinaciones, concordantes con las anteriores, observamos que no siempre una mayor rigidez aórtica se acompaña de disfunción endotelial demostrable por la vasodilatación mediada por flujo y viceversa. Esto se explica por la diferente composición estructural de la pared arterial de los distintos territorios estudiados. Los resultados de ambas formas de medir la VOP, ya sea para determinar la rigidez aórtica central o la vasodilatación mediada por flujo, son estimaciones de riesgo independientes y complementarias. En diferentes subgrupos de pacientes se pueden establecer diferencias que lleven a establecer terapéuticas más ajustadas para cada caso en particular.

Limitaciones del estudio

El presente estudio tiene como limitación el predominio de población femenina. Como es sabido, las mujeres en general presentan menos complicaciones vasculares y cuando éstas aparecen, lo hacen a edades más avanzadas.

CONCLUSIONES

La VOP carótido-radial preinducción y posinducción de isquemia es un método nuevo para evaluar la VMF y, por ende, la función endotelial. La vasodilatación produce disminución de la VOP carótido-radial, que es cuantificable, y los resultados son comparables con

los publicados mediante la ultrasonografía. Los sujetos sanos tienen un descenso de la VOP más significativo que los hipertensos por mayor vasodilatación. Las mujeres normotensas tuvieron una VMF significativamente más importante que los varones normotensos. Por el contrario, entre los hipertensos, las mujeres evidenciaron una disfunción endotelial más acentuada que los varones. Este hallazgo marca diferencias en la función endotelial entre mujeres y varones que merecen futuros estudios.

Este procedimiento constituye una herramienta sencilla para evaluar la función endotelial.

Perspectivas futuras

La divulgación y la aplicación de este método en la práctica clínica en diversas disciplinas puede conducir a un diagnóstico más temprano de las alteraciones vasculares secundarias a la disfunción endotelial y, por lo tanto, a un tratamiento más temprano y eficaz.

SUMMARY

Evaluation of Endothelial Function through Pulse Wave Velocity

Background

Endothelial dysfunction occurs early in the development of atherosclerosis and constitutes the physiopathologic basis of this condition and of cardiovascular disease (CVD). Ultrasound is useful to study endothelial function through the assessment of flow-mediated dilation (FMD). Endothelial function may also be evaluated by the change in pulse wave velocity (PWV) with results that are similar to those obtained by other methods according to the Moens-Korteweg equation.

Objectives

To evaluate endothelial function through the changes in the carotid-radial PWV before and after inducing ischemia at the level of the brachial artery.

Material and Methods

Carotid-radial PWV was determined in 24 hypertensive patients (160 women, 63.6 ± 12.3 years and 88 men, 63.1 ± 11.6 years) and in 56 controls (38 women, 63.1 ± 12.6 years and 18 men, 56.1 ± 13.7 years). A reduction in PWV $<5\%$ was considered a normal endothelial response. Patients with abnormal response received 5 mg of sublingual isosorbide dinitrate to evaluate endothelium-independent vasodilation for validation of the method.

Results

An average reduction by 9.3% was recorded in healthy subjects compared to a reduction by 1.5% in hypertensive patients ($p < 0.0005$). The reduction in PWV after the administration of sublingual isosorbide dinitrate was even greater compared to normal subjects (18.2%) ($p < 0.0001$).

Conclusions

The measurement of carotid-radial PWV before and after inducing ischemia is a reliable method to evaluate endothelial function.

Key words > Endothelium / Physiology - Hypertension - Pulsating Flow/ Physiology

BIBLIOGRAFÍA

1. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al; International Brachial Artery Reactivity Task Force. Guidelines for the Ultrasound Assessment of Endothelial-Dependent Flow-Mediated Vasodilation of the Brachial Artery: A Report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol* 2002;39:257-65.
2. Asmar R, Topouchian J, Pannier B, Benetos A, Safar M; Scientific, Quality Control, Coordination and Investigation Committees of the Complior Study. Pulse wave velocity as endpoint in large-scale intervention trial. The Complior study. *J Hypertens* 2001;19:813-8.
3. Bellido CA, Iavicoli OR, Rusak EJ, Vazquez ST, Piñeiro DJ, Lerman J. Continuous improvement of arterial compliance beyond blood pressure decrease after five years of antihypertensive treatment. *J Clin Hypertens* 2006;8:555-60.
4. Nichols WW, O'Rourke MF. McDonald's. Blood flow in arteries. Theoretical, experimental and clinical principles. 4th ed. London: Arnold; 1998.
5. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, et al. Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies. *Hypertension* 1995;26:485-90.
6. Ducharme A, Dupuis J, McNicoll S, Harel F, Tardif JC. Comparison of nitroglycerin lingual spray and sublingual tablet on time of onset and duration of brachial artery vasodilation in normal subjects. *Am J Cardiol* 1999;84:952-4.
7. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, Lonn E, Kendall CB, Mohler ER, et al; American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular Medicine. *J Am Soc Echocardiogr* 2008;21:93-111.
8. Eigenbrodt ML, Bursac Z, Tracy RE, Mehta JL, Rose KM, Couper DJ. B-mode ultrasound common carotid artery intima-media thickness and external diameter: cross-sectional and longitudinal associations with carotid atherosclerosis in a large population sample. *Cardiovasc Ultrasound* 2008;6:10.
9. Khoshdel AR, Thakkestian A, Carney SL, Attia J. Estimation of an age-specific reference interval for pulse wave velocity: a meta-analysis. *J Hypertens* 2006;24:1231-7.
10. Willum-Hansen T, Staessen JA, Torp-Pedersen C, Rasmussen S, Thijs L, Ibsen H, et al. Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation* 2006;113:664-70.
11. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-6.
12. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet* 1992;340:1111-5.
13. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-6.
14. Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002;420:868-74.
15. Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105:1135-43.
16. De Caterina R, Libby P, Peng HB, Thannickal VJ, Rajavashisth TB, Gimbrone MA Jr, et al. Nitric oxide decreases cytokine induced endothelial activation. Nitric oxide selectively reduces endothelial expression of adhesion molecules and proinflammatory cytokines. *J Clin Invest* 1995;96:60-8.
17. Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Endothelial function: A critical determinant in atherosclerosis? *Circulation* 2004;109:II27-33.
18. Quyyumi AA, Dakak N, Andrews NP, Husain S, Arora S, Gilligan DM, et al. Nitric oxide activity in the human coronary circulation. Impact of risk factors for coronary atherosclerosis. *J Clin Invest* 1995;95:1747-55.
19. Naka KK, Tweddell AC, Doshi SN, Goodfellow J, Henderson AH. Flow-mediated changes in pulse wave velocity: a new clinical measure of endothelial function. *Eur Heart J* 2006;27:302-9.

Agradecimiento

Deseamos expresar nuestro agradecimiento al Dr. Vicente Castiglia del Departamento de Asesoría Científica del Hospital de Clínicas por su consejo y colaboración.