

UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

FACULTAD DE MEDICINA

**DEPARTAMENTO DE MEDICINA, PSIQUIATRÍA Y
DERMATOLOGÍA**



TESIS DOCTORAL

**ATEROSCLEROSIS SUBCLÍNICA MEDIDA
MEDIANTE EL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA
CAROTÍDEO EN HIPERLIPEMIAS PRIMARIAS**

Memoria presentada por:

ESTÍBALIZ JARAUTA SIMÓN

Licenciada en Medicina

para optar al

Grado de Doctor por la Universidad de Zaragoza

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN.....	1-80
1.1. Definición de aterosclerosis	1
1.2. Fenómenos inflamatorios implicados en la aterosclerosis	2
1.2.1. Disfunción del endotelio vascular.....	2
1.2.2. Adhesión molecular y migración de elementos celulares	3
1.2.3. Monocitos, macrófagos, células musculares lisas e inmunidad	4
1.2.4. Plaquetas	7
1.3. Evolución anatomopatológica de la lesión aterosclerótica	7
1.3.1. Capa íntima en sujetos sanos y regiones proclives a desarrollar aterosclerosis	8
1.3.2. Definición de lesión inicial, estría grasa y lesiones intermedias	9
1.3.3. Lesiones avanzadas y clasificación histológica de aterosclerosis.....	13
1.4. Placa vulnerable	15
1.5. Factores de riesgo cardiovasculares	17
1.5.1. Dislipemia, lipoproteínas y patogenia de aterosclerosis.....	17
1.5.1.1. Hipercolesterolemia	18
1.5.1.2. Hipertrigliceridemia	20

1.5.2. Presión arterial	21
1.5.3. Sobrepeso y obesidad	23
1.5.4. Tabaquismo	25
1.5.5. Diabetes mellitus	26
1.5.6. Proteína C reactiva como marcador de riesgo cardiovascular	27
1.6. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular	29
1.6.1. Cardiopatía isquémica	32
1.6.2. Enfermedad cerebrovascular	33
1.6.3. Otras formas clínicas de aterosclerosis	34
1.7. Dislipemia de origen genético y enfermedad aterosclerótica	36
1.7.1. Hipercolesterolemia familiar	36
1.7.1.1. Fisiopatología del LDL	37
1.7.1.2. Perfil lipídico en sujetos con HF.....	39
1.7.1.3. Depósitos extravasculares de colesterol	41
1.7.1.4. Hipercolesterolemia familiar y enfermedad cardiovascular.....	44
1.7.2. Otras causas de hipercolesterolemia familiar no asociadas a LDL.....	46
1.7.2.1. Alteraciones de PCSK9	47

1.7.2.2.	Hipercolesterolemia autosómica recesiva (ARH)	47
1.7.2.3.	Déficit de colesterol 7 α hidroxilasa (CYP7A1).....	48
1.7.2.4.	Sitosterolemia	48
1.7.2.5.	Hiperlipoproteinemia a (hiperLpa)	49
1.7.3.	Hiperlipemia familiar combinada (HFC)	50
1.7.3.1	Definición y diagnóstico	50
1.7.3.2	Hiperlipemia familiar combinada y enfermedad cardiovascular	51
1.8	Diagnóstico de aterosclerosis subclínica como marcador subrogado de enfermedad cardiovascular	52
1.8.1	Marcador subrogado de enfermedad cardiovascular	53
1.8.2	Tomografía computerizada con haz de electrones	55
1.8.3	Función endotelial; vasodilatación de arteria braquial dependiente de flujo	56
1.9	Grosor íntima-media como técnica diagnóstica de aterosclerosis preclínica	57
1.9.1	Grosor íntima-media y enfermedad cardiovascular	59
1.9.1.1	Grosor íntima-media y enfermedad coronaria	63
1.9.1.2	Grosor íntima-media y enfermedad cerebrovascular	65

1.9.1.3 Grosor íntima-media y enfermedad vascular periférica	67
1.9.2 Factores determinantes del grosor íntima-media de arteria carótida	68
1.9.2.1 Hipertensión arterial	69
1.9.2.2 Diabetes mellitus	70
1.9.2.3 Tabaquismo	71
1.9.2.4 Factores genéticos	71
1.9.2.5 Grosor íntima-media y progresión de aterosclerosis	72
1.9.3 Grosor íntima-media como marcador subrogado de tratamiento médico de aterosclerosis. Principales ensayos clínicos	73
1.10 Grosor íntima-media y dislipemias primarias	77
1.10.1 Grosor íntima-media e hipercolesterolemia familiar	77
1.10.2 Grosor íntima-media e hiperlipemia familiar combinada	78
2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	81 - 84
2.1 Hipótesis	81
2.2 Objetivos	83
3 MATERIAL Y MÉTODOS	85 - 98
3.1 Sujetos incluidos en el estudio	85
3.2 Examen clínico	86

3.3 Perfil bioquímico	87
3.4 Criterios de clasificación y diagnóstico de las principales dislipemias incluidas en el estudio	91
3.5 Estudio ultrasonográfico de arteria carótida	93
4 RESULTADOS	99 - 140
4.1 Distribución del grosor íntima media de arteria carótida en sujetos sanos sin factores de riesgo cardiovascular conocidos	99
4.2 Relación entre el tamaño del tendón de Aquiles y el grosor íntima-media de arteria carótida en pacientes con hipercolesterolemia familiar.....	108
4.3 Comparación del grosor íntima-media entre sujetos con hipercolesterolemia familiar e hiperlipemia familiar combinada.....	117
4.4 Impacto del tipo de mutación en el gen del receptor LDL en el desarrollo de aterosclerosis en pacientes con hipercolesterolemia familiar	129
4.5 Sobreexpresión del gen CXCL3 en respuesta a LDL oxidada y asociación con la presencia de xantomas tendinosos en sujetos con hipercolesterolemia familiar	134
5 CONCLUSIONES.....	141 - 144
5 BIBLIOGRAFÍA	145 - 169

6 ANEXOS:

- Artículo 1:

Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de Groot E, Cenarro A, Nuñez A, Coll B, Masana L, Ros E, Civeira F.

Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia.

Publicado en *Atherosclerosis* 2009; 204: 345–347

- Artículo 2:

Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F.

Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular Carotid intima-media thickness in subjects without cardiovascular risk factors.

Aceptado en *Revista Española de Cardiología*

- Artículo 3:

Jarauta E, Mateo-Gallego R, Gilabert R, Plana N, de Groot E, Otvos J, Masana L, Ros E and Civeira F.

Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia and Familial Combined Hyperlipidemia.

Enviado a *Atheroscl Thromb Vasc Biol*

- Artículo 4:

Junyent, M, Gilabert R, Jarauta E, Núñez I, Cofán M, Civeira F, Pocoví M, Mallén M, Zambón D, Almagro F, Vega J, Tejedor D, Ros E.

Impact of low-density lipoprotein receptor mutational class on carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia

Enviado a *Atherosclerosis*

- Artículo 5:

Martín-Fuentes P, Civeira F, Solanas-Barca M, García-Otín AL, Jarauta E, and Cenarro A.

Overexpression of the CXCL3 gene in response to oxidized low-density lipoprotein is associated with the presence of tendon xanthomas in familial Hypercholesterolemia.

Publicado en *Biochem. Cell Biol.* 2009; 87: 1–7

ABREVIATURAS UTILIZADAS EN EL TEXTO

ACV:	accidente cerebrovascular
AIT:	accidente isquémico transitorio
ApoA:	apolipoproteína a
APOB:	Gen de apoB
ApoB:	apolipoproteína B
BC:	bulbo carotídeo
CC:	carótida común
CETP:	<i>cholesterol ester transfer protein</i>
cHDL:	colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (HDL)
CI:	carótida interna
cLDL:	colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (LDL)
C-MGF:	factor de crecimiento de colonias de macrófagos
CT:	colesterol total
cVLDL:	colesterol unido a lipoproteínas de muy baja densidad
CXCL3:	<i>chemokine (c-x-c motif) ligand 3</i>
DM:	diabetes mellitus
EC:	enfermedad coronaria
ECBV:	enfermedad cerebrovascular
ECV:	enfermedad cardiovascular
ELISA:	<i>enzyme-linked immunosorbent assay</i>
EVP:	enfermedad vascular periférica
FRCV:	factores de riesgo cardiovascular

GIM:	grosor íntima-media
GIMc:	grosor íntima-media de arteria carótida
G-MSF:	<i>granulocyte-monocyte stimulate factor</i>
HDL:	lipoproteínas de alta densidad
HC:	Hipercolesterolemia
heHF:	hipercolesterolemia familiar heterocigota
HFC:	hiperlipemia familiar combinada
HTA:	hipertensión arterial
HTG:	Hipertrigliceridemia
IAM:	infarto agudo de miocardio
ITB:	índice tobillo brazo
IL-1:	interleucina 1
IL-2:	interleucina 2
IL-8	interleucina 8
ILGF:	factor de crecimiento insulín like
LDL:	lipoproteínas de baja densidad
LDLox:	LDL oxidada
LDLpd:	LDL pequeñas y densas
Lp(a):	lipoproteína (a)
MSCT:	<i>multislice computer tomography</i>
ON:	óxido nítrico
PAD:	presión arterial diastólica
PAS:	presión arterial sistólica

PCR:	proteína c reactiva
PDGF:	<i>platelet- derived groth factor</i>
QM:	quilomicrones
RCV:	riesgo cardiovascular
RI:	resistencia a la insulina
LDLR:	gen del receptor de ldl
rLDL:	receptor de LDL
SM:	síndrome metabólico
SR:	<i>scavenger receptor</i>
TG:	Triglicéridos
TLRs:	<i>toll like receptors</i>
TNF- α :	<i>tumor necrosis factor -α</i>
VLDL:	lipoproteínas de muy baja densidad
VCAM-1:	molécula de adhesión a células vasculares
XT:	xantoma tendinoso

1. INTRODUCCIÓN

1.1. DEFINICIÓN DE ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico¹ caracterizado por la alteración morfológica y funcional de la pared vascular que en estadios finales tiene como consecuencia la disminución del calibre de la luz arterial .A las alteraciones de la pared arterial se asocian con mayor frecuencia fenómenos de agregación plaquetaria y trombosis que pueden llegar a producir la obstrucción completa de la luz arterial.

Las lesiones ateroscleróticas asientan principalmente en arterias elásticas y musculares de gran y mediano calibre. Dentro de éstas las arterias coronarias, que irrigan el miocardio, las arterias carótidas y sus ramas que irrigan el cerebro y las arterias ilíacas y sus ramas que vascularizan las extremidades inferiores son los segmentos arteriales en los que con mayor frecuencia se localizan este tipo de lesiones. Los tejidos cuya irrigación es subsidiaria de dichas arterias sufren isquemia por falta de aporte de oxígeno llegando a producirse isquemia o necrosis por muerte del tejido afecto cuando la falta de aporte sanguíneo es total. Otra variedad de enfermedad aterosclerótica es la formación de dilataciones aneurismáticas, localizadas principalmente en la arteria aorta. Las principales complicaciones de este tipo de lesiones son la formación de trombos en la luz arterial y/o la ruptura de la pared.

Desde hace varias décadas se han reconocido una serie de factores clínicos y epidemiológicos asociados con mayor incidencia de enfermedad isquémica principalmente cardíaca pero también en el resto de órganos descritos previamente. El aumento de colesterol en sangre ha sido señalado como el principal factor de riesgo asociado al desarrollo de aterosclerosis². Además el

aumento de presión arterial, la alteración del metabolismo hidrocarbonado en la diabetes mellitus (DM), la disminución del colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) y el hábito tabáquico son algunos de los factores señalados como principales modificadores del riesgo individual de sufrir un evento cardiovascular³. Estos factores no son simples marcadores de enfermedad sino que ejercen una acción importante en el inicio y aceleración del proceso inflamatorio implicado en el desarrollo de aterosclerosis⁴.

1.2 FENÓMENOS INFLAMATORIOS IMPLICADOS EN LA ATEROSCLEROSIS

1.2.1 DISFUNCIÓN DEL ENDOTELIO VASCULAR

La disfunción del endotelio vascular es la primera alteración producida como respuesta a una agresión ejercida en la pared vascular^{1,2}. Varios estudios han demostrado correlación entre disfunción endotelial y la presencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) en personas sin evidencia clínica de enfermedad aterosclerótica⁴.

Como primera consecuencia se altera el equilibrio entre la producción de agentes vasodilatadores como óxido nítrico (ON) y vasoconstrictores como endotelina y angiotensina II lo que coopera en la iniciación, progresión y complicación de la lesión aterosclerótica⁵. También se ha demostrado la activación focal del endotelio en arterias de gran y mediano calibre secundaria al aumento en la concentración de colesterol en sangre lo que inicia la respuesta inflamatoria en la pared arterial⁶. A partir de ciertas concentraciones de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL) aumenta la

producción de VCAM-1 (molécula de adhesión a células vasculares) así como la adhesión a la superficie del endotelio de linfocitos y macrófagos y su posterior migración al espacio subendotelial. Otros agentes como el tabaco, el aumento de presión arterial o DM agreden al endotelio provocando un aumento en la producción de radicales libres. También se han descrito factores genéticos implicados en la mayor vulnerabilidad del endotelio vascular⁵.

1.2.2 ADHESIÓN MOLECULAR Y MIGRACIÓN DE ELEMENTOS CELULARES

Las células endoteliales contienen gran variedad de receptores específicos para distintas moléculas como LDL⁷, insulina⁸ e histamina⁹. Otra de sus propiedades es la permeabilidad a gran variedad de proteínas plasmáticas. La frecuencia de transporte de lipoproteínas y otras macromoléculas a su través depende de la concentración plasmática de estas sustancias, de su tamaño y de su carga eléctrica. Este transporte se modifica con la edad, la presión arterial y el tono vascular. Los cambios de flujo alteran la expresión de genes que producen factores quimiotácticos y aumentan la expresión de moléculas de adhesión¹⁰. También aumenta el tiempo de contacto de las lipoproteínas y con ello la probabilidad de que se internalicen dentro del endotelio poniendo en marcha los mecanismos desencadenantes de la respuesta inflamatoria⁶.

La respuesta de las células a la acción de distintos factores de riesgo se traduce también en una mayor capacidad de adhesión y permeabilidad de leucocitos y plaquetas a la capa endotelial que adquiere capacidad procoagulante a la vez que estimulan la producción de citoquinas. Estas moléculas y otras sustancias vasoactivas y proinflamatorias atraerán hacia la lesión macrófagos y linfocitos T provenientes del torrente circulatorio¹¹.

Las moléculas de LDL en el endotelio ejercen una acción quimiotáctica sobre monocitos y aumenta la expresión de genes activadores del crecimiento de colonias de macrófagos (CMGF) lo que supone un fenómeno decisivo en la evolución de la lesión¹². Los macrófagos activados liberan mediadores de inflamación como uroquinasa e interleucina 1 (IL-1) facilitando la entrada de monocitos y la adhesión de las moléculas de LDL a las células endoteliales¹¹.

En una etapa posterior se produce la migración de células musculares lisas desde la capa más profunda de la íntima y de macrófagos y linfocitos T desde el torrente sanguíneo al espacio subendotelial. Los monocitos se transforman en macrófagos que captan y fagocitan las lipoproteínas depositadas en el espacio subendotelial a través de receptores de membrana denominados scavenger receptor (SR). La activación de estas células se sigue de liberación de enzimas hidrolíticas, citoquinas, quimioquinas y factores de crecimiento que amplifican la respuesta inflamatoria llegando a producirse necrosis focal en algunas zonas. La repetición cíclica de estos fenómenos se acompaña de acumulación de células mononucleadas y de la formación de tejido fibroso que ocasionan el crecimiento y reorganización de la lesión. Como resultado final se forma una capa fibrosa que cubre un núcleo de lípidos extracelulares y tejido necrótico⁵.

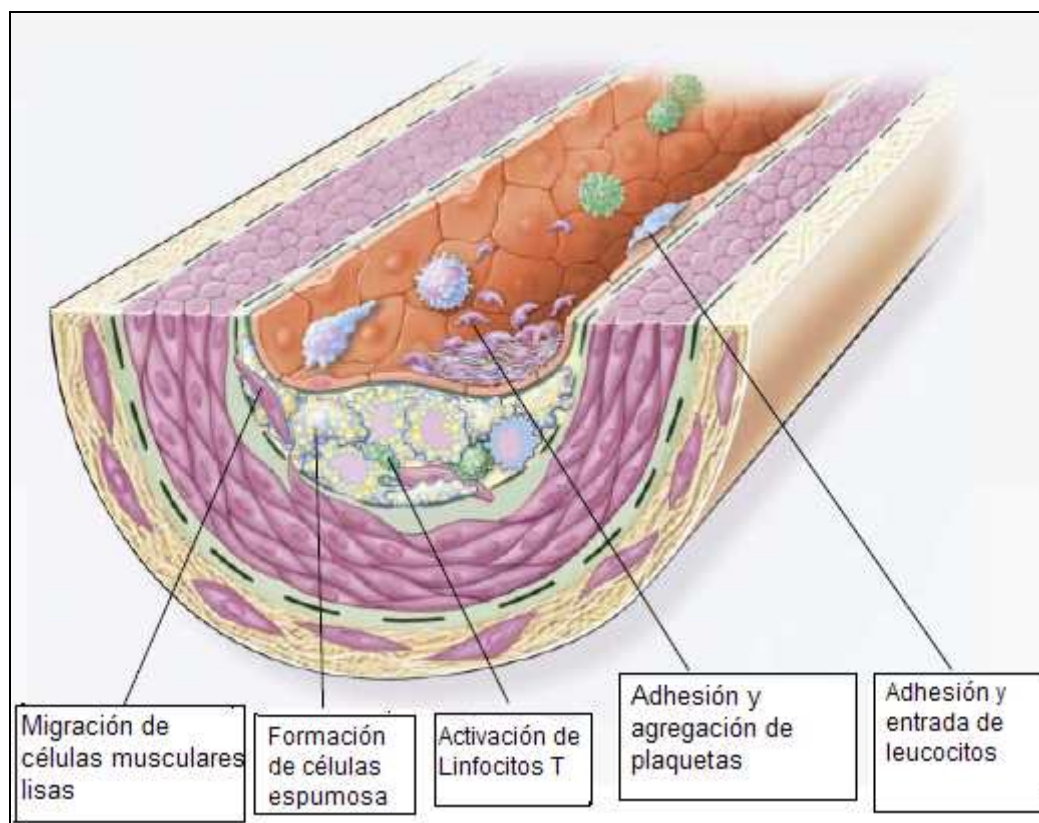
1.2.3 MONOCITOS, MACRÓFAGOS, CÉLULAS MUSCULARES LISAS E INMUNIDAD

Los monocitos, ampliamente distribuidos en los tejidos humanos y precursores de los macrófagos están presentes en todas las fases del proceso aterosclerótico. Los monocitos aumentan la expresión de receptores inespecíficos del sistema inmune innato, SR y toll-like receptores (TLRs), determinantes en la organización y expansión de la respuesta inflamatoria en la lesión aterosclerótica¹

Dentro de la pared arterial las moléculas de LDL son sometidas a procesos de oxidación dando lugar a moléculas LDLox que se introducen en los macrófagos a través de SR. Este proceso facilita la formación de peróxidos lipídicos y la acumulación de ésteres de colesterol dando lugar a células espumosas (figura 1.1). La captación y eliminación de LDL es parte importante de la acción protectora inicial que realizan los macrófagos en el proceso inflamatorio minimizando los efectos de esta molécula en las células endoteliales y células musculares lisas¹³. En sentido opuesto se ha observado el efecto beneficioso de las moléculas de HDL mediante el aumento en la liberación de ON, la disminución en la concentración de IL-1 y VCAM-1 y la disminución de la oxidación de LDL¹⁴.

Los macrófagos actúan también como células presentadoras de antígenos, células secretoras de quimioquinas, factores de crecimiento, metaloproteinasas y otras enzimas hidrolíticas por lo que su acción va a ser determinante en el desarrollo y progresión de la lesión aterosclerótica. La continua entrada, replicación y supervivencia de las células depende de factores tales como el factor estimulador de granulocitos-macrófagos (G-MSF), derivados de los propios monocitos, de IL1 β que actúa como mediador de inflamación y es producida por los macrófagos, IL-2, secretada por los linfocitos o IL-8 producida también por macrófagos, con potente acción quimiotáctica y angiogénica. Dentro de la familia de las quimioquinas CXC la CXCL3 (Chemokine (C-X-C motif) ligand 3) controla la migración y adhesión de los macrófagos. Por contra, la acción del interferón γ activa la muerte celular programada de los macrófagos. Cuando esto ocurre, los restos celulares aparecen dentro de los núcleos necróticos, característicos de lesiones ateroscleróticas avanzadas¹.

Figura 1.1 Inflamación y formación de la lesión aterosclerótica en la pared vascular



Modificado de Ross R et al. Atherosclerosis, an inflammatory disease.
N Eng J Med 1999 340:115-26.

Se ha comprobado también la gran importancia de las células musculares lisas y de los linfocitos T en la progresión de la lesión¹⁸. Su gran capacidad para producir citoquinas como el factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e IL-1, enzimas proteolíticas, particularmente metaloproteinasas y factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento insulín-like (ILGF) es crítica en su capacidad de reparar tejidos. A su vez los macrófagos activados presentan antígenos a los linfocitos T mediante antígenos de histocompatibilidad tipo II¹⁹. Una de las moléculas que actúa como antígeno es LDLox²⁰.

1.2.4 PLAQUETAS

La activación de las plaquetas es uno de los fenómenos determinantes en la iniciación y progresión de lesiones aterocleróticas en animales y humanos¹⁸. Se adhieren al endotelio disfuncionante así como al colágeno expuesto en las lesiones y a los macrófagos. Una vez activadas, liberan granulocitos que contienen citoquinas y factores de crecimiento que junto con la trombina pueden contribuir a la migración y proliferación de células musculares lisas y linfocitos¹⁹. Además, las plaquetas son una de las principales fuentes de ON por lo que su disfunción altera la homeostasis de la pared vascular²⁰.

En cuanto a la respuesta vasomotora, la estimulación de las plaquetas conduce a la formación de ácido araquidónico que a su vez puede transformarse en tromboxano A₂, una de las sustancias vasoconstrictoras y proagregantes más potentes que se conocen, o bien en leucotrienos que amplifican la respuesta inflamatoria. En lesiones avanzadas las plaquetas ejercen una importante función protectora manteniendo la integridad de la pared arterial y protegiéndola frente al desarrollo de hemorragias espontáneas.

1.3 EVOLUCIÓN ANATOMOPATOLÓGICA DE LA LESIÓN ATEROSCLERÓTICA

En el análisis histológico de muestras obtenidas de autopsias de sujetos asintomáticos entre los 2 y 15 años de edad, fallecidos por causas no relacionadas con enfermedad aterosclerótica, las lesiones se localizaron principalmente en la arteria aorta, arterias coronarias y en general en la bifurcación de las arterias²¹. En esta sección se describe la evolución de la lesión

desde estadios iniciales en los que se producen cambios detectados sólo microscópicamente hasta fases avanzadas en las que se produce un remodelado y alteración de la luz arterial.

1.3.1 CAPA ÍNTIMA EN SUJETOS SANOS Y REGIONES PROCLIVES A DESARROLLAR ATEROSCLEROSIS

Las fases iniciales de la aterosclerosis comienzan en la capa íntima de la pared arterial definida como la región de la pared arterial contigua a la luz del vaso, desde el endotelio hasta la capa media. La capa íntima a su vez se separa en dos niveles: el más próximo a la luz vascular está compuesto principalmente por proteoglicanos, células endoteliales, que forman una capa monocelular que cubre completamente la superficie en contacto con la luz arterial, macrófagos y células musculares lisas aisladas. Una segunda capa por debajo de la anterior se compone por abundantes células musculares lisas y fibras elásticas (figura 1.2). Esta zona se separa de la capa media mediante una capa elástica que suele estar ausente en bifurcaciones, ramificaciones o curvaturas²².

Desde el punto de vista morfológico existen segmentos de arterias con engrosamiento de la capa íntima sin que ésta pierda sus características morfológicas. Este fenómeno se considera una adaptación a cambios en el flujo y presión de la pared y se dan con más frecuencia en zonas de ramificaciones y orificios, con una distribución irregular dentro de la sección circular de la arteria^{21, 22}. En estas zonas se produce un mayor recambio de células endoteliales y células musculares lisas además de acumulación de lipoproteínas y otras macromoléculas del plasma²². En muchos casos estas mismas localizaciones son aquellas en las que posteriormente asientan las lesiones ateroscleróticas por lo que para algunos el engrosamiento de la capa íntima supondría el estadio inicial de la lesión aterosclerótica.

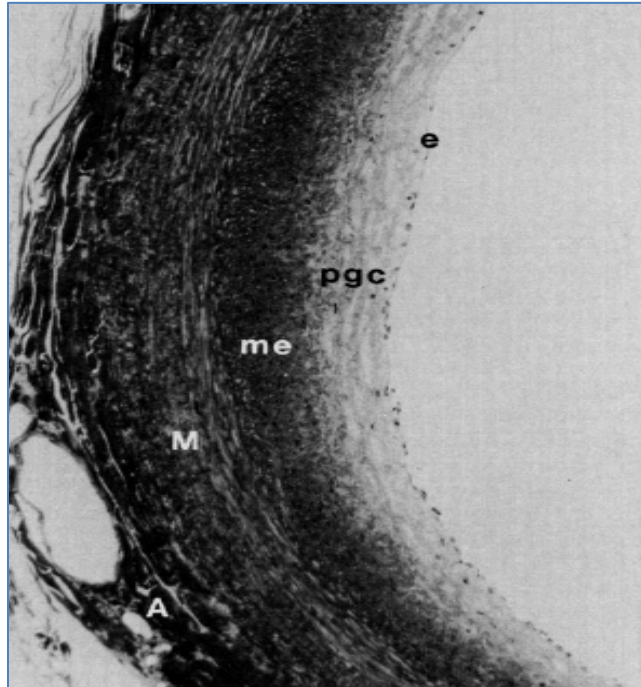
1.3.2 DEFINICIÓN DE LESIONES INICIALES, ESTRÍA GRASA Y LESIONES INTERMEDIAS

Técnicamente es imposible seguir la evolución de una misma lesión a lo largo de la vida de un individuo por lo que los datos que nos permiten describir la evolución anatomopatológica de la enfermedad se han obtenido tras estudiar segmentos con la misma localización en individuos de distintas edades. De acuerdo a los hallazgos obtenidos se distinguen tres estadios sucesivos dentro de las fases iniciales de la aterosclerosis (figura 1.3)⁸:

Lesión Tipo I o lesión inicial. Se describe como el depósito de lípidos en la íntima y la reacción celular asociada detectada mediante la exploración microscópica de los tejidos ya que no puede observarse a simple vista. Son más frecuentes en arterias de niños si bien puede encontrarse en adultos con poca aterosclerosis o en segmentos de arterias resistentes a la aterosclerosis. Microscópicamente corresponden a grupos aislados de macrófagos con lípidos en su interior circunscritos a las zonas de la íntima más engrosadas.

Lesión Tipo II. Estas lesiones son las primeras detectables macroscópicamente y se describen como “estrias grasas”, acúmulos de células espumosas lineales o en forma de “gota”. Sin embargo, en fases iniciales, siguen pasando desapercibidas para el ojo humano. Microscópicamente se definen como células espumosas organizadas en capas. En la lesión se observa mayor número de macrófagos que en el estadio previo.

Figura 1.2. Imagen microscópica de la pared arterial de un varón de 16 años fallecido sin historia de enfermedad cardiovascular.



(e) corresponde con el endotelio, (pgc) proteoglicanos y (me) capa elástica interna, dentro de la íntima. (M) capa media (A) capa adventicia. Tomado de Stary HC et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1994;14:840-56.

La mayor cantidad de lípidos se contiene dentro de las células pero ya se observan pequeñas cantidades acumuladas fuera de ellas, principalmente ésteres de colesterol²³. También comienzan a detectarse células musculares lisas con “gotas” de lípidos en su interior en la capa más profunda de la íntima así como mayor cantidad de matriz extracelular, linfocitos T y mastocitos. Este tipo de lesiones se han descrito en arterias de sujetos de 30 años sin FRCV ni historia personal de eventos cardiovasculares conocidos²¹.

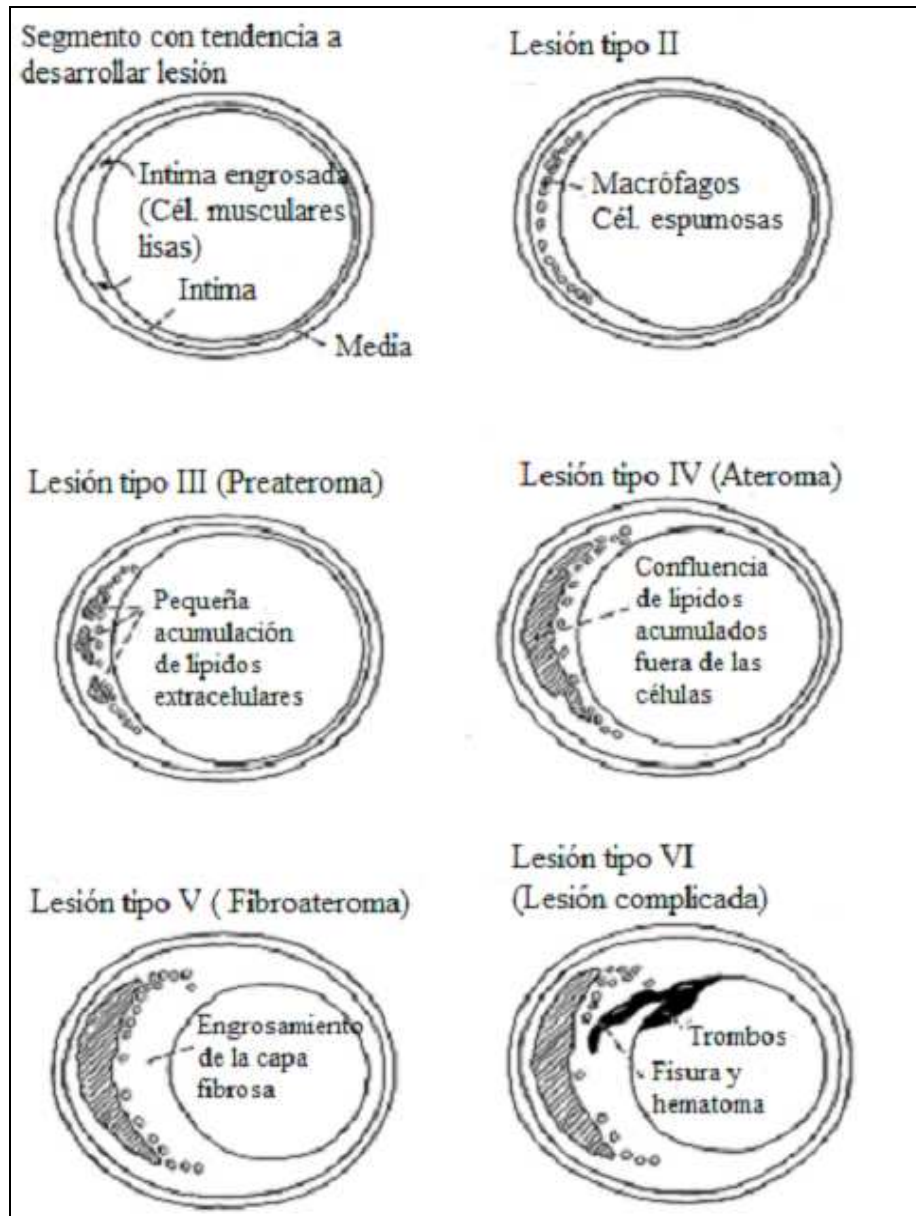
Sólo una parte de estas lesiones evolucionarán hacia el estadio siguiente constituyendo un subtipo especial dentro de las lesiones tipo II. Pueden aparecer en zonas que soportan mayor estrés por alteración en la dirección del flujo sanguíneo sin que tengan que coexistir siempre con altas concentraciones de cLDL. En estas circunstancias se supone que la presión ejercida en la pared

vascular provoca mayor tiempo de contacto entre la superficie celular y la sangre lo que facilita la internación de estas moléculas en la capa íntima. En sujetos con altas concentraciones de cLDL como aquellos con hipercolesterolemia familiar homocigota las lesiones tipo II darán lugar rápidamente a lesiones avanzadas, incluso en localizaciones atípicas²⁶.

Lesión Tipo III. Este tipo de lesiones enlazan entre las lesiones iniciales y lesiones avanzadas. Histológicamente se caracterizan por la acumulación extracelular de lípidos que confluyen entre capas de células musculares lisas en zonas de la íntima. Los lípidos extracelulares reemplazan el contenido de la matriz, confluyen y desplazan al resto de elementos celulares dando lugar a pequeñas gotas de grasa sin que todavía se forme un gran núcleo lipídico extracelular ni se afecte la estructura de la capa media⁸.

Las lesiones iniciales en general permanecen clínicamente silentes al cesar la acción del agente agresor, por ejemplo al normalizarse las concentraciones de cLDL. En todas ellas la capa media adyacente a la lesión permanece intacta. Por el contrario en las lesiones avanzadas, el depósito extracelular de lípidos produce la ruptura y deformación de la íntima. En lesiones muy avanzadas estos depósitos pueden afectar a las capas media y adventicia (figura 1.3)²²

Figura 1.3. Esquema de las lesiones ateroscleróticas desde el estadio inicial hasta el desarrollo de complicaciones.



Modificado de Stary, HC. et al. A definition of advanced Types of Atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation* 1995; 92: 1355-74.

1.3.3 LESIONES AVANZADAS Y CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LA ATEROSCLEROSIS

Las lesiones avanzadas son aquellas en las que la acumulación de material extracelular, principalmente lípidos, ha ocasionado una importante alteración en la estructura de la capa íntima produciendo su engrosamiento y desorganización junto con la deformación de la pared arterial. A partir de este estadio, la probabilidad de complicación de la lesión de forma súbita por mecanismos trombóticos secundarios o no a la ruptura de la placa es mucho mayor⁵. Dentro de las lesiones avanzadas se incluyen tres tipos diferentes (figura 1.3):

Lesión Tipo IV. La confluencia de pequeñas gotas de lípidos extracelulares y células espumosas dentro de la íntima da lugar a un núcleo lipídico, también conocido como “ateroma” que se cree es el resultado de la afluencia continua de lipoproteínas desde el plasma²². En este estadio, los lípidos acumulados engruesan visiblemente la capa íntima pero sin producir todavía la disminución del calibre de la luz arterial²⁵. La matriz extracelular es desplazada localizándose entre el core lipídico y la superficie endotelial. En su interior se concentran macrófagos, linfocitos, mastocitos y células musculares lisas. Con frecuencia se acompañan de capilares que bordean los límites de la lesión. En algunas muestras de sujetos de edad media sin antecedentes clínicos de enfermedad cardiovascular (ECV) se ha observado la calcificación de organelas lo que dará lugar a imágenes hiperecogénicas en la exploración ecográfica de la lesión. La disminución de colágeno y el aumento de macrófagos facilitan la formación de fisuras en esta zona. Como consecuencia se pueden producir con mayor probabilidad complicaciones aterotrombóticas que den lugar a manifestaciones clínicas por disminución del flujo arterial²⁶.

Lesión Tipo V. En este estadio la capa de matriz extracelular que rodea el core lipídico se transforma en una prominente capa de tejido fibroso. Este nuevo tejido se compone principalmente de colágeno y células musculares lisas con abundante expresión del retículo endoplásmico rugoso que aumenta el grosor de la capa íntima. Esta capa se engruesa más cuando engloba en su interior restos de trombos que se han ido incorporando y reorganizado en su interior. En los márgenes de la capa fibrosa aparecen capilares que suelen ser mayores y más numerosos que en las lesiones tipo IV, junto con macrófagos, linfocitos y células plasmáticas. Con frecuencia se acompañan de microhemorragias cuyos restos quedan englobados en la propia lesión. Existen distintas variaciones según se incluya el core lipídico, se asocie o no con tejido fibroso y aparezcan o no calcificaciones. En este estadio se produce la disminución de la luz vascular y alteraciones en el flujo sanguíneo que las hacen aún más proclives a nuevas complicaciones⁵.

Lesión Tipo VI. Se clasifican en este apartado las lesiones tipo IV o V que han sufrido una ruptura o erosión de la capa fibrosa, hemorragia o trombosis. Estas lesiones son las que con más frecuencia ocasionan manifestaciones clínicas por disminución del flujo arterial. Estas complicaciones pueden asentar en cualquier estadio de la aterosclerosis, incluso en la superficie de la íntima sin lesión aparente, aunque en este último caso son mucho menos probables.

A la vez que se producen todos estos fenómenos se produce una adaptación del calibre vascular. La evolución de la lesión ocasiona el engrosamiento de la pared arterial junto con el aumento del tamaño de la arteria por lo que el calibre de la arteria permanece preservado hasta que el aumento en el diámetro arterial se hace insuficiente dando lugar a la disminución de la luz vascular y alteraciones del flujo sanguíneo²⁵.

1.4 PLACA VULNERABLE

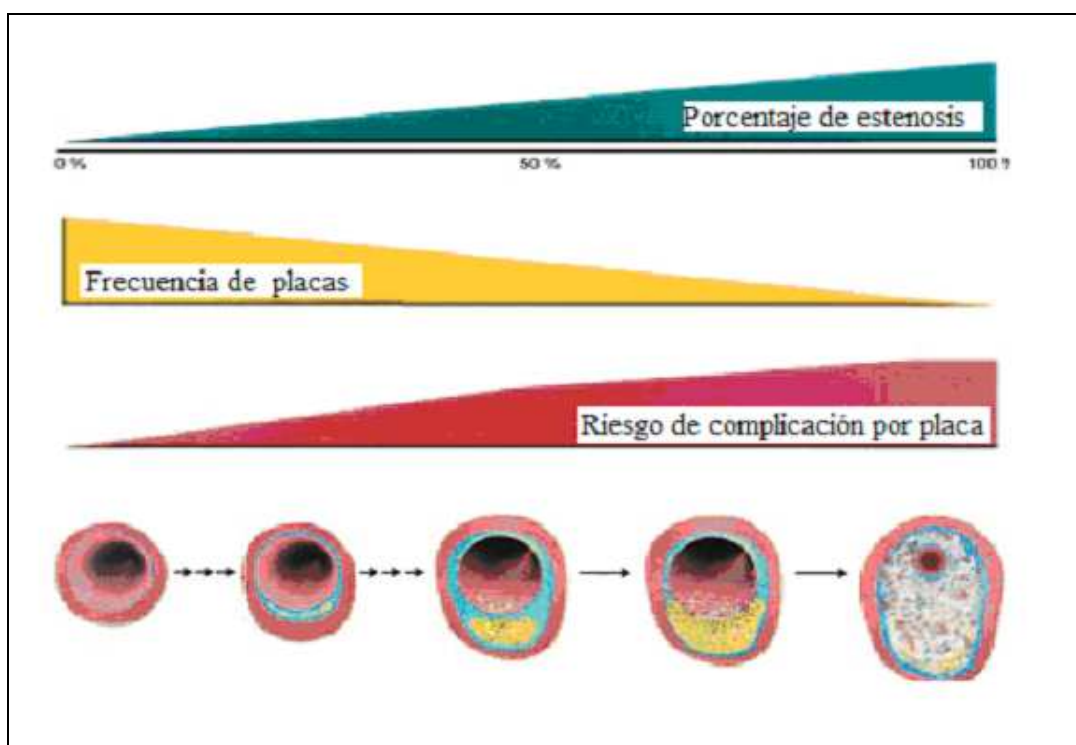
La ruptura de la placa ateromatosa es la complicación más frecuente de las lesiones ateroscleróticas, considerándose la causa del 70% de todos los infartos agudos de miocardio (IAM) y muertes súbitas²⁷. En otros estudios alrededor del 50% de las lesiones causantes de eventos isquémicos agudos no mostraron estenosis significativa de la luz arterial en una primera angiografía por lo que la complicación aguda de la placa, más que la estenosis de la luz arterial parece ser el factor desencadenante del episodio clínico^{28, 29}. Las lesiones en estadios avanzados (IV y siguientes) son aquellas que con mayor probabilidad pueden complicarse y dar lugar a un evento isquémico agudo a corto plazo. Se estima que en una gran proporción de casos las complicaciones trombóticas de la placa, secundarias a pequeñas rupturas o fisuras son asintomáticas y forman parte de la evolución natural de la lesión, dando lugar a la estenosis progresiva de la luz arterial³⁰.

Un alto porcentaje de las placas complicadas corresponden a lesiones con una delgada capa fibrosa y abundante núcleo lipídico. Se ha especulado sobre distintos factores que facilitan la ruptura de esta capa fibrosa: presencia de células inflamatorias^{31,32}, liberación de sustancias tóxicas y/o proteolíticas por los macrófagos alojados en la lesión³², espasmo coronario³³, debilidad de las estructuras que componen la lesión, alteraciones por stress de la pared³⁴ o ruptura de pequeños vasos dentro de la lesión³². La ruptura de la capa fibrosa desencadena el proceso trombótico al exponer material de su interior (fosfolípidos, factor tisular y moléculas de adhesión de plaquetas) al torrente circulatorio⁵.

En los casos no relacionados con la ruptura de la placa, el principal desencadenante de un evento isquémico agudo es la erosión del endotelio o la calcificación nodular dando lugar a fenómenos de trombosis y obstrucción de la luz arterial por la activación de plaquetas en la superficie de la placa³⁰.

En otras ocasiones la dilatación del segmento de la pared que alberga la lesión produce lesiones aneurismáticas. En la mayoría de las ocasiones la lesión presenta una superficie erosionada o se asocia con lesiones tipo VI que contienen trombos en su interior, a pesar de lo cual se preserva el calibre de la luz arterial⁵. Estas lesiones son típicas de arterias de gran calibre como la arteria aorta.

Figura 1.4. Relación entre el porcentaje de estenosis, tipo de placa y riesgo de complicación



Modificado de Naghavi et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003;108:1664-72.

En un mismo sujeto coexisten lesiones en distinto estadio evolutivo por lo que para determinar con mayor exactitud el riesgo de complicaciones ateroscleróticas es necesario evaluar ampliamente un territorio o varios territorios arteriales y no sólo lesiones focales. Se ha comprobado la asociación entre la frecuencia de placas, el grado de estenosis y el grado de complicación de las mismas (figura 1.4). Aunque el riesgo de complicación trombótica pudiera ser mayor en lesiones con estenosis severa, en general en un individuo existen más lesiones ateroscleróticas en estadios intermedios cuyo riesgo relativo de complicación es menor³⁵.

1.5 FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULARES

1.5.1 DISLIPEMIA, LIPOPROTEÍNAS Y PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS

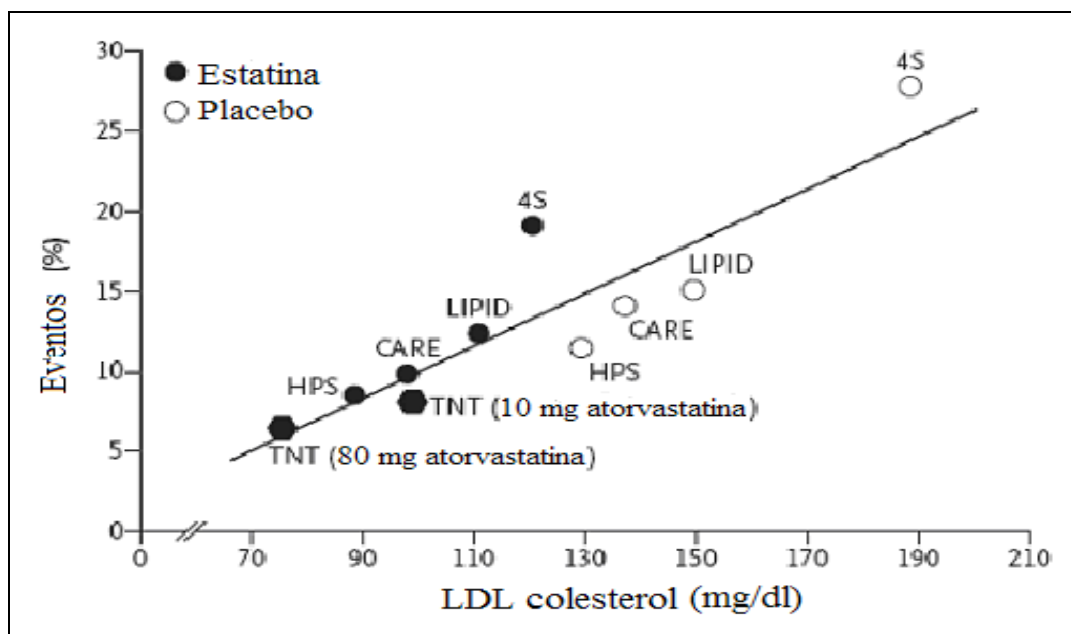
El aumento en las concentraciones de colesterol como factor causante de la progresión de la lesión aterosclerótica fue enunciada por primera vez a mediados del siglo XIX por Virchow. En la mitad del siglo XX con el aumento en la incidencia de la patología derivada de enfermedad aterosclerótica este paradigma fue ganando aceptación hasta llegar a considerar el aumento de colesterol como uno de los principales factores de riesgo asociado con la progresión de aterosclerosis y con la incidencia de ECV³⁶. Actualmente, el aumento de colesterol en sangre secundario al aumento en la concentración de cLDL es aceptado como el principal factor de riesgo de enfermedad aterosclerótica³⁷. En uno de los primeros estudios realizados para valorar la prevalencia de dislipemia en sujetos con cardiopatía isquémica (CI) en el que se incluyeron quinientos supervivientes de IAM, se detectó algún tipo de

dislipemia en el 31% los sujetos. Este porcentaje se elevó hasta el 60% entre varones menores de 40 años y mujeres menores de 50 años³⁶.

1.5.1.1 HIPERCOLESTEROLEMIA

Los resultados obtenidos en estudios epidemiológicos, con animales de experimentación y en formas genéticas de hipercolesterolemia han demostrado que la concentración elevada de cLDL es uno de los principales factores de riesgo conocidos de ECV. Resulta paradigmática la incidencia de CI en la segunda década de la vida en sujetos con hipercolesterolemia familiar homocigota³⁸.

Figura 1.5. Relación entre las concentraciones medias de cLDL obtenida e incidencia de eventos cardiovasculares en diferentes estudios de prevención secundaria.



Modificado de LaRosa et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Eng J Med* 2005;352: 1425-35.

Se ha demostrado una asociación positiva entre la concentración de CT y la mortalidad por CI³⁹. La disminución en la concentración de cLDL se acompañan de disminución proporcional en la incidencia y mortalidad por ECV, tanto en prevención primaria³⁹⁻⁴¹ como secundaria⁴²⁻⁴⁵ siendo mayor el beneficio cuanto mayor sea la reducción obtenida en la concentración de cLDL(figura1.5).

La prevalencia de hipercolesterolemia en España, definida como la concentración de CT superior a 250 mg/dl es de alrededor del 20% en población general, similar a la de otros países industrializados. En el estudio HISPALIPID en el que fueron estudiados más de 33000 sujetos recogidos en consultas médicas no especializadas, un 25% presentaba dislipemia (69% hipercolesterolemia 26% dislipemias mixtas y el 5% restante hipertrigliceridemias)⁴⁶.

No sólo las moléculas de LDL ejercen un efecto sobre la incidencia de ECV. Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) son moléculas que realizan el transporte reverso del colesterol desde las arterias a los tejidos periféricos siendo capaces de intercambiar ésteres de colesterol y triglicéridos (TG) con moléculas de LDL y VLDL (lipoproteínas de muy baja densidad). Sus altas concentraciones se han postulado como un factor protector frente al desarrollo de aterosclerosis mientras que la disminución de sus valores en sangre se ha demostrado como un factor de riesgo independiente de ECV^{47, 48}. En la cohorte de Framingham se observó un aumento del riesgo cardiovascular independiente de los valores de cLDL, especialmente en varones con cHDL menor de 25 mg/dl y en mujeres con cHDL menor de 35 mg/dl⁴⁸.

La revisión de cuatro grandes estudios epidemiológicos ha demostrado una disminución en la incidencia de eventos cardiovasculares del 2 al 3 % por cada miligramo de cHDL aumentado en sangre⁴⁹. En otro estudio de prevención

secundaria la administración de gemfibrozilo en sujetos con cHDL menor de 40 mg/dl se asoció a un aumento en su concentración del 6% y a una disminución de ECV del 22 %⁵⁰.

1.5.1.2 HIPERTRIGLICERIDEMIA

El aumento de TG en sangre o hipertrigliceridemia (HTG) definido como la concentración de triglicéridos en sangre por encima del percentil 90 de la distribución en la población según edad y sexo, es la alteración en el perfil lipídico más frecuentemente observada en sujetos con IAM precoz⁵¹. Es además, la dislipemia que con más frecuencia se asocia con otros FRCV como HTA, DM y bajas concentraciones de cHDL⁵². En el estudio PROCAM (Prospective Cardiovascular Münster Study)⁵³ el aumento en la concentración de TG se mostró como un factor de riesgo independiente de ECV en aquellos sujetos con altas concentraciones de cLDL mientras que en la cohorte de Framingham resultó ser un importante predictor independiente de CI⁴⁸. En estudios más recientes se ha relacionado la HTG postprandial como un importante factor de riesgo de aterosclerosis⁵⁴.

El aumento de TG en sangre puede aparecer de forma aislada o con hipercolesterolemia cuando aumenta en sangre el número de moléculas de VLDL. Se asocia además, con la disminución de cHDL y el aumento de moléculas de LDL pequeñas y densas (LDLpd). Este mismo perfil lipídico es frecuente también en algunas dislipemias familiares en las que se ha detectado gran prevalencia de ECV como la hiperlipemia familiar combinada (HFC) y la disbetalipoproteinemia⁵⁵.

Las partículas LDLpd se generan por acción de la lipasa hepática e intestinal a partir de moléculas de LDL ricas en TG. Se ha postulado la especial

acción aterógena de estas moléculas por presentar mayor tendencia a la oxidación y por su mayor capacidad de unirse a los glicosaminoglicanos de la superficie celular y de ser captadas por los SR de la superficie de los macrófagos⁵⁶. Su concentración está elevada en un alto porcentaje de individuos tras un episodio coronario agudo. En muchos casos su acción aterogénica no parece ser independiente sino que está relacionada con otros cambios en las características y concentración de lipoproteínas y otros factores de riesgo asociados en estos sujetos⁵⁷.

El aumento en la concentración de TG actúa como marcador de resistencia a la insulina (RI) en sujetos con DM, sobrepeso y obesidad. Como consecuencia de las alteraciones en la acción de la insulina a nivel hepático se produce un aumento de ácidos grasos libres en sangre y en la oxidación de glucosa en periodos postprandiales. El aflujo de ácidos grasos libres al hígado se ha enunciado como una de las principales causas del aumento en la producción de TG, apo B y VLDL. La RI además, disminuye la acción de la lipoprotein lipasa, con la consiguiente disminución del aclaramiento del plasma de lipoproteínas ricas en TG⁵⁶.

1.5.2 PRESIÓN ARTERIAL

La prevalencia de HTA, en población general española es del 35%, considerando como tal a aquellos sujetos con presión arterial sistólica (PAS) y/o diastólica (PAD) igual o mayor de 140 y 90 mmHg respectivamente o en tratamiento farmacológico antihipertensivo. Estas cifras ascienden hasta el 40-50% cuando consideramos sujetos de edades medias y al 68% en mayores de 60 años⁵⁸. En general, alrededor del 40% de los sujetos hipertensos presenta un control óptimo de sus cifras de tensión arterial. Estos porcentajes descienden hasta el 15% en aquellos con mayor morbilidad como son los diabéticos y los

pacientes con insuficiencia renal en los que el control exhaustivo de los FRCV se hace más necesario⁵⁹. En países del ámbito anglosajón la prevalencia global de la HTA se sitúa alrededor del 25%. Estas diferencias pueden tener relación con la diferencia en el patrón mediterráneo de ECV en el que los eventos cerebrovasculares son más frecuentes que los episodios de CI⁶⁰.

La prevalencia de HTA no expresan sino una parte de un problema mucho más amplio ya que se estima que hasta otro 34% de individuos en la población general presentan cifras de tensión arterial por encima de los valores óptimos (120/80 mmHg). Dichos valores, aunque no se consideran como diagnóstico de HTA, se asocian a mayor incidencia de eventos cardiovasculares⁶¹. También se han relacionado de forma directa las cifras de presión arterial elevadas en la edad juvenil con la prevalencia de HTA en la edad adulta⁶².

El aumento en la prevalencia de HTA en España parece estar en relación con el mayor envejecimiento de la población y la epidemia actual de sobrepeso y obesidad⁵⁹. La HTA es alrededor de 6 veces más frecuente en obesos que en sujetos delgados y aumenta progresivamente a medida que aumenta el índice de masa corporal (IMC), sobre todo si la grasa corporal tiene una distribución abdominal. La prevalencia de HTA en varones pasó de 15% en aquellos con IMC menor de 25 Kg/m² hasta el 42% en aquellos con IMC mayor de 30 Kg/m². En mujeres en los mismos grupos de IMC la prevalencia de HTA pasó del 15% al 38%. Además, un alto porcentaje de sujetos hipertensos presenta al menos sobrepeso⁶². La ganancia de peso en sujetos jóvenes es un factor de riesgo para desarrollar HTA en la edad adulta⁶³.

En pacientes hipertensos, la concentración de angiotensina II, el principal metabolito resultante de la estimulación del eje renina-angiotensina, está generalmente elevada. La angiotensina II actúa antagonizando el efecto del ON,

aumentando la producción de endotelina por estímulo directo en las células endoteliales y estimulando el crecimiento de las células musculares lisas por lo que se cree que es responsable del engrosamiento de la capa media arterial⁶⁴. Mediante la unión con un receptor específico la angiotensina II produce un aumento en la síntesis de proteínas dentro de estas células, además de su contracción e hipertrofia⁶⁵.

La HTA tiene actividad proinflamatoria añadida al asociarse con un aumento en la formación de peróxido de hidrógeno y radicales libres. Estas sustancias disminuyen la formación de ON en el endotelio, aumentan la adhesión de leucocitos y las resistencias periféricas^{66, 67} En zonas con alteración de la tensión hemodinámica en la pared arterial aumenta la expresión de moléculas de adhesión y genes inflamatorios por parte de las células endoteliales.

1.5.3 SOBREPESO Y OBESIDAD

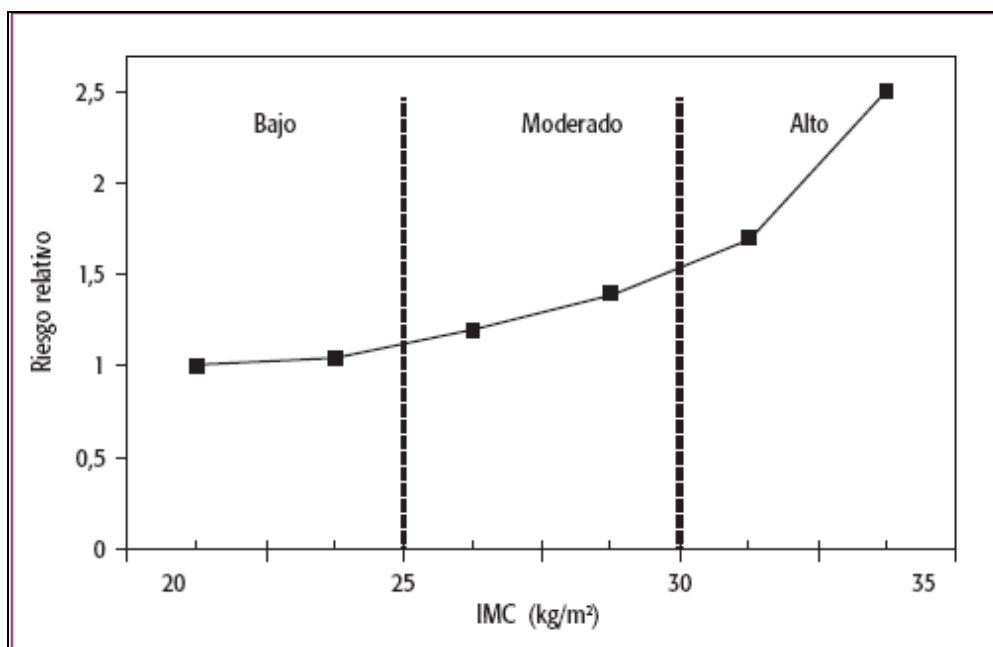
Desde hace dos décadas se ha observado un importante aumento en el número de sujetos con síndrome metabólico (SM) a lo largo de todo el mundo en relación con la epidemia de obesidad y DM⁶⁸. Para el diagnóstico de SM se requiere que en un mismo sujeto confluyan diferentes factores: altas concentraciones de TG, bajas de cHDL, hiperglucemia, HTA y obesidad de distribución abdominal⁶⁹

Se ha descrito un incremento continuo y gradual del riesgo relativo de mortalidad con el aumento del IMC⁶³. Esta asociación es mucho más importante a partir de valores de IMC de 30 Kg/m² (figura 1.6). En un estudio reciente, tras el seguimiento de más de 270.000 sujetos desde la infancia hasta la edad adulta

,se observó una relación lineal positiva entre los valores del IMC en la infancia y la incidencia de eventos cardiovasculares en la edad adulta⁷⁰.

En España la prevalencia de sobrepeso (IMC entre 25 y 30 Kg/m²) y obesidad (IMC mayor de 30 Kg/m²) ha aumentado en los últimos años, de forma mucho más evidente en niños⁷¹. En 2003 la prevalencia global de obesidad fue del 13,5%, sin diferencias entre ambos sexos, aumentando con la edad e inversamente proporcional al nivel socioeconómico^{72, 73}.

Figura 1.6. Relación entre IMC y riesgo cardiovascular



Manson JE et al. Body weight and mortality among women. *N Engl J Med* 1995; 333: 677-685.

La prevalencia de SM varía entre zonas geográficas y grupos étnicos y aumenta con la edad. En los últimos años se ha intentado llegar a una única definición de SM basada principalmente en hallazgos clínicos y biológicos desarrollada por la International Diabetes Federation (IDF). Esta nueva definición aporta diferentes límites para la definición de obesidad abdominal según el grupo étnico y establece la concentración límite de glucosa en 100

mg/dl ⁷⁴. Además, ha demostrado mayor sensibilidad que los criterios de la ATP-III en la detección de sujetos con RI en población española⁷⁵.

1.5.4 TABAQUISMO

El consumo de tabaco constituye uno de los principales riesgos para la salud cardiovascular y es la principal causa de morbi-mortalidad prematura y prevenible en el mundo desarrollado⁷⁶. La prevalencia del consumo de tabaco en población general española en 2006 fue de 23,7%, en clara tendencia descendente en el cómputo general y en los varones, mientras que este hábito se ha hecho más popular entre el sexo femenino⁷⁷.

El impacto del consumo de tabaco en la mortalidad es muy notable. En el año 2001 el tabaco fue responsable en España de 54200 muertes (15,5 % del total de muertes en mayores de 35 años). De éstas, un tercio fueron muertes por ECV⁷⁸ siendo junto con la DM el principal factor de riesgo asociado con episodios de isquemia de extremidades inferiores. La abstención del hábito tabáquico es una medida eficaz tanto para la prevención primaria como secundaria de nuevos episodios de ECV²⁰.

El hábito tabáquico se ha asociado con mayores concentraciones de CT y menores de cHDL, así como con HTG postprandial⁷⁹, mayor agregación plaquetaria y actividad vasomotora⁸⁰. En los últimos estudios epidemiológicos se ha relacionado además con nuevos factores de riesgo o marcadores de riesgo emergentes como la proteína C reactiva (PCR), homocisteína y fibrinógeno⁸¹.

La acción proaterogénica de los productos derivados del humo del tabaco se ejerce principalmente en el tejido elástico de la pared arterial disminuyendo la cantidad de elastina y aumentando la actividad elastasa⁸² por la activación de

proteasas de neutrófilos⁸³. En este contexto podría enmarcarse la relación encontrada entre tabaquismo y mayor prevalencia de aneurismas de aorta por la disminución de tejido elástico en la pared aneurismática. También se ha observado alteraciones en la función del endotelio arterial en respuesta a estímulos vasoactivos en fumadores respecto a no fumadores⁸⁴. Los fumadores presentan lesiones más evolucionadas que los no fumadores cualquiera que sea el estadio en que se comparen por lo que se puede concluir que el tabaco influye en la evolución de las lesiones ateroscleróticas desde fases iniciales hasta lesiones avanzadas⁸⁵.

1.5.5 DIABETES MELLITUS

El diagnóstico de DM se establece cuando los valores de glucosa en sangre en ayunas son superiores a 125 mg/dl en al menos dos determinaciones realizadas en dos días diferentes o bien cuando alcanzan los 200 mg/dl en cualquier determinación o a las dos horas de realizar una sobrecarga oral de 75 mg de glucosa⁸⁷. Nueve de cada 10 casos de DM son tipo 2 (DMT2) mientras que el 10% restante corresponden a DM tipo 1⁷⁴. La prevalencia de DMT2 en población general española se calcula en la actualidad en torno al 10%. Su incidencia ha ido aumentando paralelamente al aumento del sobrepeso y obesidad pero se calcula que sólo la mitad de los sujetos con criterios de DM están diagnosticados. En los últimos años el diagnóstico de DMT2 se está produciendo en edades cada vez más tempranas de la vida⁸⁸.

Los sujetos con DM presentan una evolución más acelerada de la enfermedad aterosclerótica debido a diferentes mecanismos como hiperglucemia, perfil lipídico aterogénico y aumento de la inflamación⁸⁹. La incidencia de ECV y la mortalidad en sujetos con DM es equivalente a la de aquellos sujetos no diabéticos que han sufrido un episodio isquémico vascular⁹⁰

La hiperglucemia aumenta la expresión de genes proinflamatorios en células endoteliales, monocitos y células musculares lisas. Además, en estudios in vitro se ha comprobado que promueve la oxidación de LDL. En presencia de hiperlipemia, la hiperglucemia estimula la proliferación de macrófagos por un mecanismo dependiente de LDLox. La proliferación de células musculares lisas parece estar implicada en la producción de moléculas de la matriz implicadas en la evolución de la aterosclerosis⁸⁹. A pesar de estos fenómenos no se ha demostrado beneficio en la mortalidad por ECV con el control intensivo de la glucemia en sujetos con DM de larga evolución respecto a aquellos que recibieron tratamiento convencional⁹¹.

Otro de los factores determinantes de la aceleración en la evolución de la aterosclerosis puede atribuirse al perfil lipídico de estos pacientes. Si bien la elevación en las concentraciones de cLDL son moderadas, se ha comprobado la eficacia del tratamiento hipolipemiante consiguiendo una reducción de entre un 25 y 50 % en la incidencia de ECV⁹². El riesgo cardiovascular puede atribuirse en parte al perfil lipídico característico de estos pacientes: mayores concentraciones de TG y LDLpd y bajas de cHDL^{55, 56}.

1.5.6 PROTEÍNA C REACTIVA COMO MARCADOR DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Aunque en un comienzo se consideró un marcador no específico de inflamación, varios estudios han sugerido un papel central de esta proteína en distintos pasos del desarrollo y progresión de aterosclerosis: inducción de disfunción endotelial, formación de células espumosas, inhibición de la diferenciación de células endoteliales progenitoras o activación del complemento en la placa aterosclerótica entre otros⁹³. Apoyando esta hipótesis se ha observado la asociación entre la presencia de placas en arteria carótida y

PCR en varones de población general de edad media⁹⁴. También se ha observado su aumento en pacientes con aumento de tejido adiposo como consecuencia del estímulo de adipoquinas o citoquinas que modifican la respuesta inflamatoria⁹⁵.

Su importancia parece ser mayor en la fase aguda de la aterosclerosis donde los valores altos de PCR se relacionan con la elevación de troponinas, la complicación de la placa detectada mediante imagen intracoronaria y con peor pronóstico a corto y medio plazo⁹⁶. Los valores de esta proteína parecen relacionarse con la activación de la placa aterosclerótica más que con el posible daño miocardio⁹⁷. En los últimos años se han intentado desarrollar algoritmos predictivos de ECV que mejorasen el poder predictivo obtenido hasta el momento con los FRCV convencionales. Tras un seguimiento medio de 10 años, se demostró mejoría en la estratificación de riesgo cardiovascular tanto en varones como en mujeres cuando en el modelo se añadía valores de PCR y antecedentes familiares de ECV. El valor considerado como límite superior de normalidad en la concentración de PCR fue de 3mg/L⁹⁸.

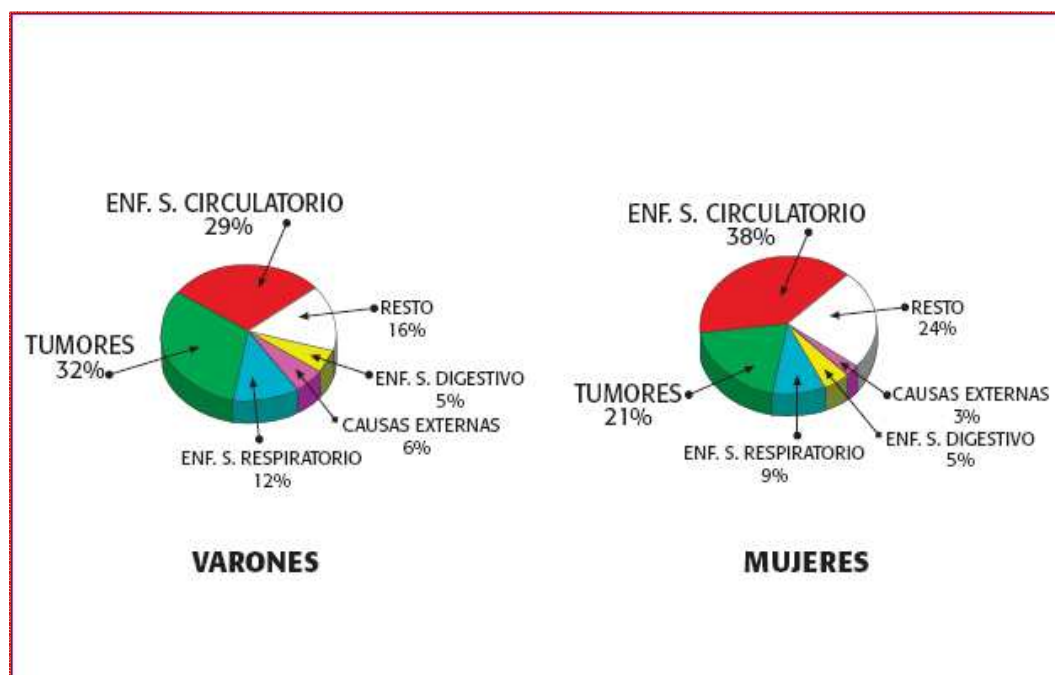
También se han relacionado con la actividad inflamatoria de placas silentes. Una elevación moderada de PCR detectada mediante inmunoanálisis es un factor de riesgo independiente para desarrollo de ECV en población sana⁹⁹. Recientemente se ha demostrado la disminución en la incidencia tanto de CI como de ECBV en aquellos sujetos con tratamiento hipolipemiante intensivo. En sujetos sin historia previa de enfermedad aterosclerótica clínica, con concentraciones de cLDL por debajo de 130 mg/dL el tratamiento hipolipemiante intensivo se asoció una disminución en la concentración de cLDL del 50 % (55 mg/dl) y una disminución del 59 % (1,36 en placebo vs 0,77 en el grupo con tratamiento activo) en el riesgo relativo de eventos

cardiovasculares respecto a placebo. El beneficio observado fue mayor en aquel grupo de pacientes en los que se consiguió una disminución adicional en la concentración de PCR⁴¹.

1.6 EPIDEMIOLOGÍA DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Las enfermedades del sistema circulatorio constituyen la primera causa de mortalidad en población española¹⁰⁰ y mundial¹⁰¹ (figura 1.7). En 2004 se atribuyeron a esta causa el 33% de todas las defunciones (29% en varones y 38% en mujeres) con una tasa bruta de mortalidad de 291 por 100.000 habitantes (269 en varones y 311 en mujeres) llegando a ser superior a mil por 100.000 habitantes en mayores de 75 años⁷³.

Figura 1.7 Causas de mortalidad en España según sexo

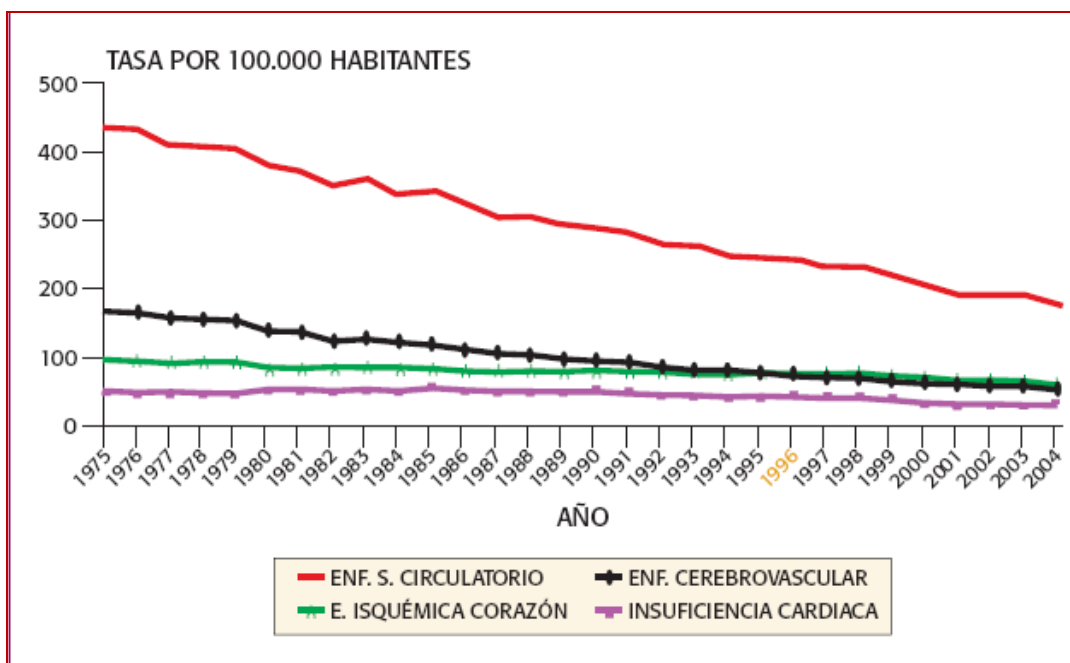


Villar F et al. Informe SEA 2007.

Las dos formas de enfermedad aterosclerótica más frecuentes son la CI (31%) y las distintas formas de enfermedad cerebrovascular (ECBV) (28%) que en conjunto suponen casi el 60% de todas las causas de mortalidad de origen aterosclerótico. La primera es más prevalente en varones y en sujetos más jóvenes mientras que la segunda aparece con más frecuencia en mujeres de edad avanzada⁷¹.

Al analizar la mortalidad proporcional por grupos de edad, las enfermedades cardiovasculares sólo son la primera causa de muerte a partir de los 75 años. En cuanto al sexo, mueren más mujeres que hombres por enfermedad del sistema circulatorio si bien la tasa de mortalidad ajustada por edad es mayor en varones que en mujeres para todos los grupos de edad excepto para mayores de 84 años.

Figura 1.8. Tasa de mortalidad por enfermedad cardiovascular en España ajustada por edad. Años 1975-2004

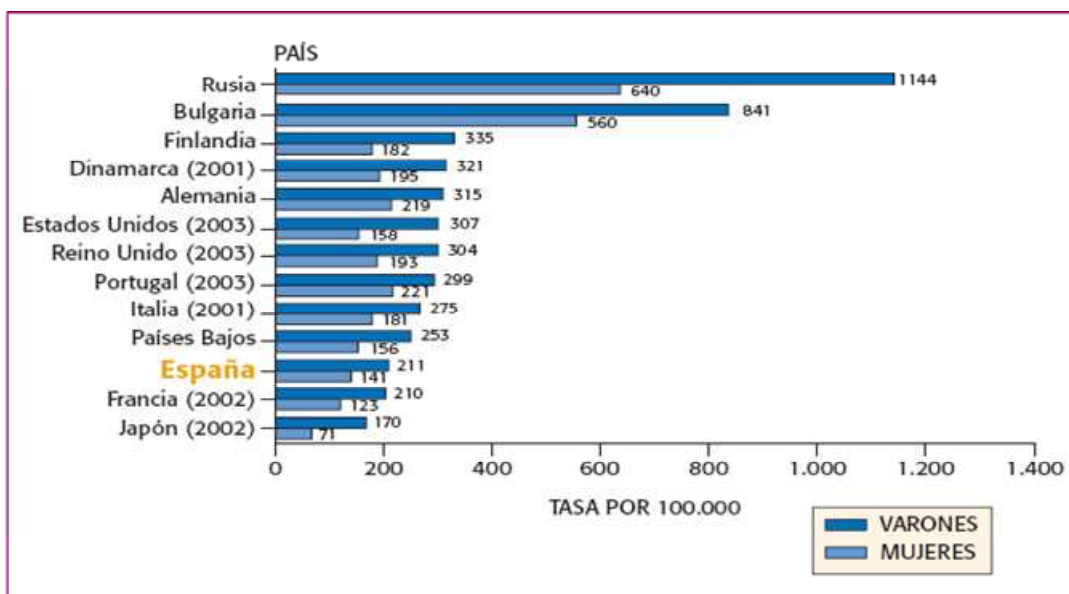


Tomado de Villar F et al. Informe SEA 2007.

En caso de CI la diferencia es mucho mayor siendo la tasa ajustada en varones doble que en mujeres mientras que la tasa ajustada de ECBV es sólo un 14 % más frecuente en varones que en mujeres. Como explicación a este fenómeno las mujeres tienen menos riesgo coronario que los varones y por lo tanto mayor probabilidad de llegar a edades avanzadas donde la mortalidad por ictus es más frecuente¹⁰².

La tasa de mortalidad por ECV ajustada por edad en España está disminuyendo un 3,1% de media desde 1975. Estos porcentajes se corresponden con una disminución media del 4,2% en la mortalidad por ECBV y del 1,2% anual debida a CI (figura 1.8). El número total de muertes por ECV sin embargo ha aumentado y se espera que aumente a lo largo de las próximas décadas debido principalmente al envejecimiento de la población¹⁰⁰.

Figura 1.9. Comparación de la tasa de mortalidad cardiovascular global entre países



Fuente WHO 2006. Tomado de Villar F et al. Informe SEA 2007.

España presenta un patrón de muerte por enfermedad aterosclerótica semejante al de otros países mediterráneos, claramente inferior al de los países del centro y norte de Europa y Norteamérica, y una posición media-baja en el contexto de la mortalidad cerebrovascular occidental¹⁰¹ (figura 1.9). La razón de estas diferencias no se conoce bien, pero tradicionalmente la dieta mediterránea ha sido considerada uno de los principales factores protectores frente al desarrollo de aterosclerosis.

1.6.1. CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

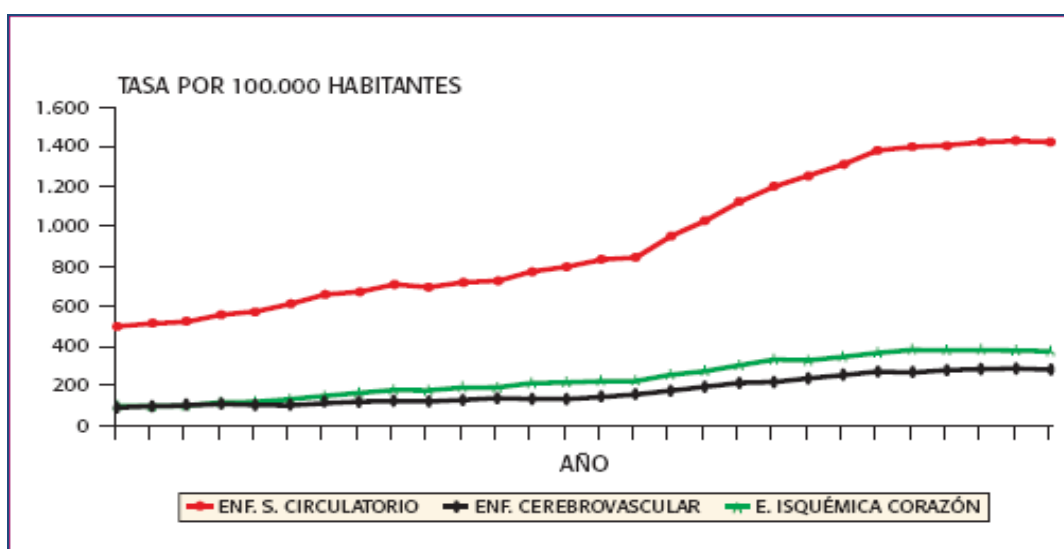
La cardiopatía isquémica (CI) es la principal causa de muerte en España desde 1996 (31% de todas las muertes cardiovasculares) predominando en varones respecto a mujeres (39% frente 25%)⁷³. Según el estudio PANES la prevalencia de angina de pecho en España en población general de 45 a 74 años fue del 7,5% lo que indicaría que existen más de un millón de sujetos afectados por esta enfermedad en nuestro país¹⁰².

La enfermedad isquémica del corazón es también la que da lugar a más morbilidad hospitalaria dentro de las enfermedades del sistema circulatorio con una tasa de 356 por 100000 habitantes entre las altas hospitalarias. Estas cifras están en constante aumento debido principalmente a la mayor supervivencia lograda hoy en día tras un evento cardiovascular y al mayor envejecimiento de la población¹⁰³ (figura 1.10). La angina de pecho es el cuadro isquémico cardiaco que con más frecuencia se asocia con ingreso hospitalario mientras que las formas agudas como el IAM son las que producen mayor mortalidad.

En general, las mujeres presentan CI una década después de los varones si bien la tasa de incidencia global entre 35 y 64 años es ligeramente superior en las mujeres respecto a los varones (51,3 y 49,4% respectivamente). Esto supone

un importante aumento en la incidencia de CI en las mujeres al final de la edad adulta¹⁰⁰.

Figura 1.10. Tendencia de la tasa de morbilidad hospitalaria por enfermedades del sistema circulatorio, enfermedad isquémica del corazón y enfermedad cerebrovascular para ambos sexos 1977-2005.



Tomado de Villar F et al. Informe SEA 2007

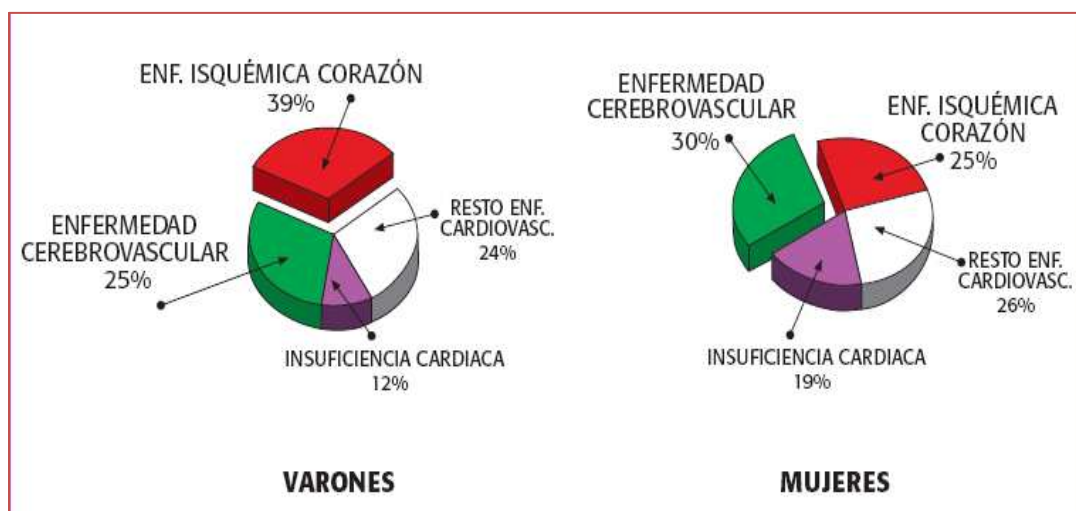
1.6.2 ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

La ECBV es responsable del 28% de muertes de causa cardiovascular en España lo cual representa una incidencia media-baja respecto a otros países a nivel mundial y similar a la observada en el área mediterránea. Al contrario de la CI, es más frecuente en mujeres que en varones (figura 1.11) constituyendo un ejemplo de patrón mediterráneo de ECV en el que predomina la enfermedad isquémica cerebral respecto a la cardíaca^{104, 105}. El principal factor de riesgo asociado con la ECBV es la HTA²⁰.

La ECBV es responsable del 10-12% de todas las muertes ocurridas en países industrializados. Su incidencia aumenta exponencialmente con la edad

(el 88% de los casos se producen en mayores de 65 años) y es mayor en sujetos de raza negra. La mortalidad es mayor en mujeres respecto a hombre (16% y 8% respectivamente) si bien ha disminuido en los últimos años, como consecuencia del mejor control de la HTA¹⁰⁶.

Figura 1.11. Incidencia de enfermedades del aparato circulatorio por sexos en España 2004



Tomado de Villar et al. Informe SEA 2007

1.6.3 OTRAS FORMAS CLÍNICAS DE ATHEROSCLEROSIS

La tercera causa de muerte de origen cardiovascular es la insuficiencia cardiaca definida como el fallo en la capacidad del corazón para movilizar el volumen sanguíneo y distribuirlo a los tejidos. Se estima que la insuficiencia cardiaca ocasiona el 15% de la mortalidad cardiovascular⁷³. Esta enfermedad es la vía final de la un alto porcentaje de enfermedades que afectan al corazón por lo que la importancia real de la CI como etiología de enfermedad cardiaca puede estar subestimada. Se calcula que la llamada enfermedad hipertensiva (HTA, enfermedad cardiaca hipertensiva y enfermedad renal hipertensiva) produce el 5% total de todas las muertes de causa cardiovascular y hasta el 15%

de la morbilidad hospitalaria debida a enfermedades del sistema circulatorio siendo la principal causa de ingreso hospitalario en mayores de 65 años⁷³.

El término enfermedad vascular periférica (EVP) incluye un grupo diverso de desórdenes que conducen a la estenosis, oclusión o dilatación aneurismática de la aorta y sus ramas no coronarias incluyendo la arteria carótida, extremidades superiores, arterias viscerales y ramas de extremidades inferiores.

La aterosclerosis sigue siendo el principal fenómeno causal de estenosis, aneurismas y tromboembolias de la arteria aorta y sus ramas. La característica de enfermedad sistémica de la aterosclerosis propicia la coexistencia de enfermedad vascular en extremidades inferiores con la afectación de otros lechos vasculares¹⁰⁸. Aquellos pacientes que presentan clínica simultáneamente en más de un territorio presentan peor pronóstico. Especialmente aquellos con clínica sugestiva de EVP presentan una mortalidad de causa cardiovascular tres veces mayor que la de aquellos sujetos de su misma edad y sexo sin dicha sintomatología¹⁰⁷. Los principales factores de riesgo en el desarrollo de EVP sintomática son el tabaquismo y DM¹⁰⁹. El cese del hábito tabáquico se asocia a menores tasas de amputación y mejor evolución clínica de la enfermedad. La DM elimina el efecto protector frente a arteriosclerosis del sexo femenino y supone la principal causa de amputación de extremidades inferiores.

La prevalencia de enfermedad vascular periférica en España es del 8,5% en mayores de 55 años (10,2% en varones y 6,3% en mujeres)¹⁰⁸. En otras poblaciones se ha detectado una prevalencia del 3 a 6 por cada 10000 en población general entre 30 y 44 años llegando hasta 61 y 54 casos por cada 10000 sujetos respectivamente en varones y mujeres entre 65 y 74 años. La prevalencia ascendió hasta el 10% en sujetos entre 55 y 74 años cuando se toma como referencia para el diagnóstico valor del Índice Tobillo-Brazo (ITB) igual o

menor de 0,9¹⁰⁹ La prevalencia aumenta con la edad y en aquellos sujetos con peor control de los FRCV¹⁰⁹.

1.7 DISLIPEMIAS DE ORIGEN GENÉTICO Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

1.7.1 HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

La hipercolesterolemia familiar heterocigota (heHF) es una de las principales dislipemias genéticas y una de las enfermedades monogénicas más frecuentes en población general¹¹⁰. Su prevalencia global se estima en torno a 1:500 en población general si bien existen grandes variaciones en distintas áreas del mundo¹¹¹. Los sujetos afectados presentan altas concentraciones de CT por aumento de cLDL en sangre desde el nacimiento o los primeros años de vida. Junto a las alteraciones en el perfil lipídico, esta enfermedad se acompaña de mayor incidencia de ECV que además acontece más precozmente que en población general. En un alto porcentaje de los pacientes afectados se producen además depósitos de colesterol en estructuras extravasculares, siendo el más característico el engrosamiento de tendones extensores de manos y pies, denominado xantoma tendino (XT)¹¹²

La causa del aumento de colesterol circulante es la disfunción del receptor específico para LDL en la superficie de la célula (rLDL) a través del cual estas moléculas se internalizan dentro de las células. El patrón de herencia es autosómico codominante con una penetrancia de casi el 100% por lo que en las familias portadoras por cada progenitor afectado un 50% de la descendencia presentará la enfermedad¹¹².

1.7.1.1 FISIOPATOLOGÍA DEL RECEPTOR LDL

El rLDL es una glicoproteína transmembrana localizada principalmente en el hepatocito. Este receptor se une principalmente a dos ligandos: apo B-100, la única apoproteína que forma parte de la molécula de LDL y apo E que forma parte de VLDL y HDL¹¹³. Se han descrito más de 1000 mutaciones causantes de esta enfermedad a lo largo de todo el mundo con una distribución muy desigual (<http://www.ucl.ac.uk/ldlr/Current>). La población HF española presenta una gran heterogenicidad genética con más de 200 mutaciones diferentes detectadas hasta el momento, la mayoría de las cuales están recogidas en la plataforma LIPOCHIP® (Progenika-Biopharma, Derio, España)¹¹⁴.

Tras la unión del complejo receptor-lipoproteína se forma un endosoma por invaginación de la propia membrana celular en la que se localiza el receptor. Estas nuevas organelas llegan hasta el retículo endoplásmico rugoso de la célula donde las moléculas de LDL son separadas de los rLDL que a su vez son reciclados hasta la membrana celular (figura 1.12). Cuando el rLDL es deficiente la captación de LDL del torrente circulatorio disminuye y la concentración de cLDL en plasma aumenta de forma inversa al número de receptores en la superficie celular. Al mismo tiempo se estimula la síntesis endógena de colesterol por la activación de la hidroximetil-glutaril coenzima A reductasa, principal enzima reguladora de la síntesis endógena de colesterol¹¹³

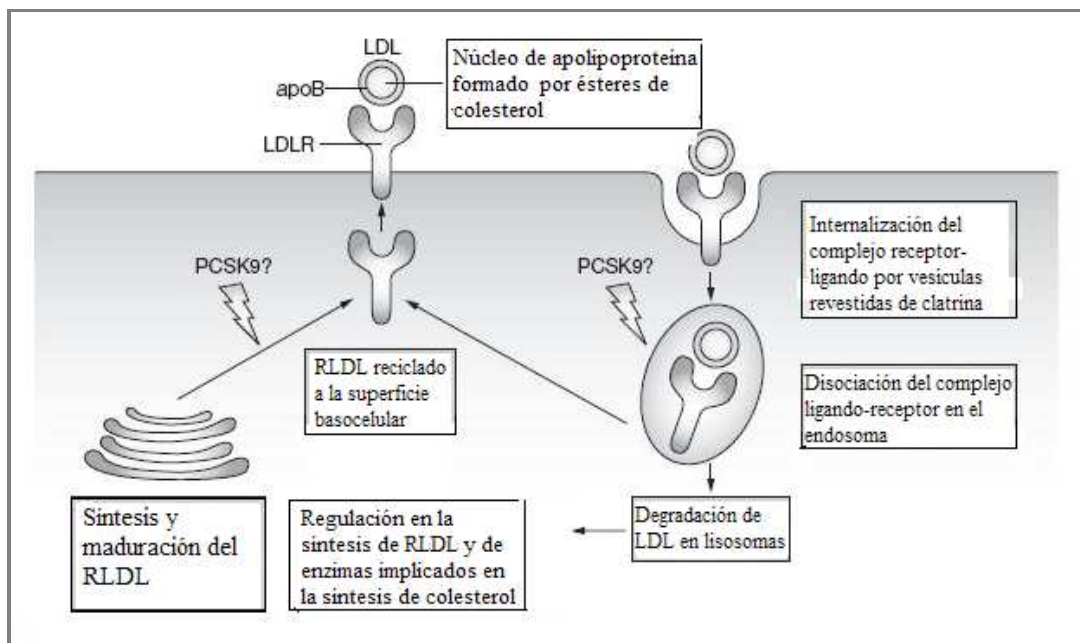
El diagnóstico de certeza de la enfermedad se obtiene por la detección de la mutación responsable en el gen del receptor de LDL (LDLR). Dicho gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 19 y codifica una única cadena glicoproteica que contiene 839 aminoácidos en su forma madura. Dentro de las mutaciones causantes de alteración en la función del rLDL (figura 1.12) se han

identificado cinco fenotipos distintos: La clase 1 es incapaz de producir una proteína inmunoprecipitable, dando lugar al denominado alelo nulo. La clase 2, que es la más frecuente, da lugar a una proteína en la que se bloquea el transporte intracelular entre el retículo endoplásmico y el aparato de Golgi (alelos defectuosos para el transporte). Los alelos de clase 3 codifican proteínas que son transportadas a la superficie de la célula pero fallan en la unión con las moléculas de LDL (alelos de unión defectuosa). Los menos frecuentes de todos ellos son los tipo 4 que alcanzan la superficie celular y se unen a la molécula de LDL pero son incapaces de internarse por medio de fagosomas (alelos defectuosos en la internación). Los alelos clase 5 codifican receptores que se unen con moléculas de LDL pero fallan en la capacidad de reciclar receptores a la superficie de la célula (receptores de reciclaje defectuoso)¹¹⁴.

Dentro de este último grupo se incluyen también los defectos asociados al gen de apo B (APOB), localizado en el cromosoma 2p23-24. Esta enfermedad es denominada Apo B defectuosa familiar. En este defecto, las moléculas de apo B-100 de las partículas de cLDL muestran baja afinidad por el rLDL lo que produce un fenotipo similar al de HF. Hasta el momento se han detectado 9 mutaciones diferentes productoras de este trastorno aunque en algunas zonas es tan frecuente como los defectos asociados al LDLR¹¹²

Los sujetos HF heterocigotos (heHF) tienen un alelo normal y otro mutado en el locus del LDLR por lo que conservan como mínimo un 50% de la capacidad de captar LDL respecto a la que presenta una célula normal. Este porcentaje varía según el tipo de mutación¹¹⁴ y en general presentan una forma clínica mucho menos severa que la observada en aquellos sujetos portadores de mutación en ambos alelos de LDLR¹¹².

Figura 1.12. Recorrido del rLDL, captación y degradación de la molécula de LDL.



Modificado de Soutar A et al. Mechanism of disease: genetic causes of familial hypercholesterolemia. *Nature Clinical practice Cardiovascular Medicine* 2007;4:214-225

Dentro de los sujetos heHF existe una gran heterogenicidad. Aquellos sin actividad en el rLDL (alelos nulos) tienden a presentar concentraciones de cLDL mayores que los sujetos portadores de mutaciones cuyo rLDL conserva parte de su actividad residual (alelos defectuosos). Los alelos “no nulos” tienen un amplio espectro de actividad (entre un 5% y un 50%). Estos valores han sido determinados en fibroblastos “in vitro” y pudieran no reflejar su actividad “in vivo”¹¹⁵.

1.7.1.2 PERFIL LIPÍDICO EN SUJETOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Las concentraciones de cLDL en plasma de sujetos con heHF heterocigotos oscilan entre 190-400 mg/dl, valores que doblan los de individuos no afectados de su misma edad y sexo¹¹². Los valores de CT (tabla 1.1) y cLDL junto con la

presencia de XT en el individuo o en otros familiares son los hallazgos que muestran mayor sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de heHF cuando no es posible estudiar la existencia de mutación en el LDLR¹¹⁸ Estos valores presentan grandes variaciones entre sujetos con la misma mutación o pertenecientes a la misma familia. En 819 sujetos en los que se detectó mutación causante de heHF en España, la concentración media de CT fue de 407 (± 83) mg/dl y el de cLDL de 312 (± 79) mg/dl, sin diferencias entre sexos¹¹⁶

Tabla 1.1 Valores de corte en familiares de primer (hijos, padres, hermanos), segundo (abuelos, sobrinos, tíos) y tercer grado (primos, tíos segundos, tío abuelo) de sujetos con hipercolesterolemia familiar según el programa USA MEDPED

Grupos de edad (años)	Grado de relación familiar con sujeto HF			Población general	"100%" Probabilidad
	Primero	Segundo	Tercero		
< 20	220 (155)	230 (165)	240 (170)	270 (200)	240
20-30	140 (170)	250 (180)	260 (185)	290 (220)	260
30-40	270 (190)	280 (200)	290 (200)	340 (240)	280
> 40	290 (205)	300 (215)	310 (225)	360 (260)	300

Modificado de Williams et al. Diagnosing heterozygous familial hypercholesterolemia using new practical criteria validated by molecular genetics. *Am J Cardiol* 1993;72:171-76.

Una de las causas de la variación en el perfil bioquímico de los sujetos con heHF proviene de la diferencias en la capacidad del receptor de unirse con lipoproteínas que contienen apo B-100 y apo E como son las moléculas VLDL, LDL, IDL y remanentes de QM. Algunas de las mutaciones bloquean la capacidad de unión con LDL sin que se altere la capacidad de unión a lipoproteínas que contienen apo E como las β -VLDL. Estudios clínicos en sujetos heHF heterocigotos que conservan la capacidad de unión del rLDL con

moléculas de β -VLDL muestran que estas mutaciones asociadas un fenotipo de enfermedad más benigno¹¹².

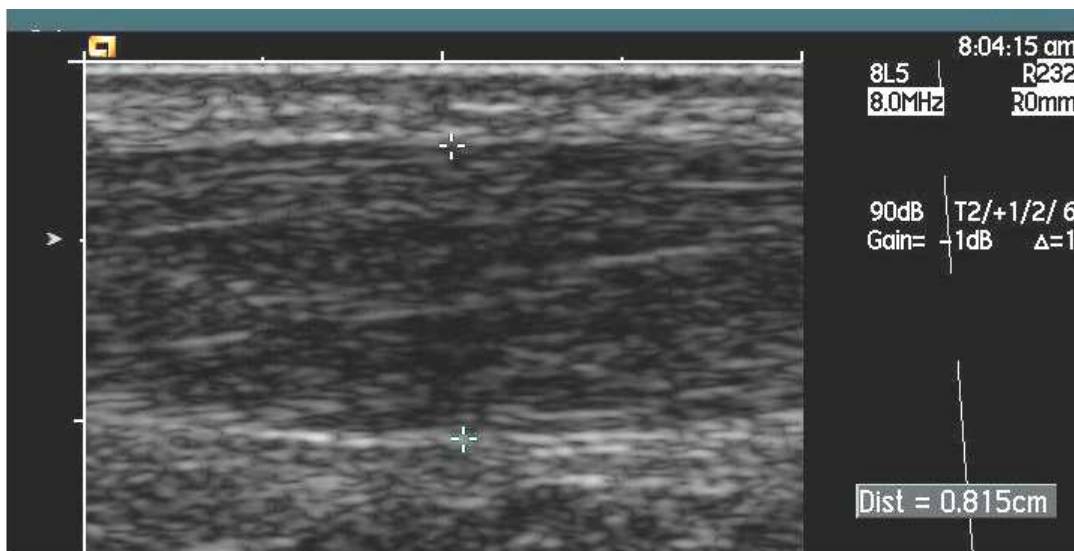
Tradicionalmente, las concentraciones de TG en sujetos con heHF se han considerado similares a las que presentaban sujetos control. En varias series de sujetos con diagnóstico genético de heHF se ha observado la coexistencia de concentraciones elevadas de TG en hasta un 20% de los sujetos^{117, 118}. En el Registro español de heHF se detectaron mayores concentraciones de TG y menores de cHDL en varones respecto a mujeres y en sujetos que presentaba XT en la exploración física respecto a los que no sin que existieran diferencias en el IMC¹¹⁶. La aparición de este fenotipo puede estar en relación con la capacidad del rLDL de captar partículas remanentes de la circulación sanguínea, cVLDL e cIDL, cargadas de TG¹¹². La concentración de cHDL no está disminuida en sujetos heHF respecto a la observada en población general.

La dieta es uno de los principales factores que modifica el perfil lipídico de estos sujetos. En algunas regiones como Túnez o China los sujetos con heHF presentan concentraciones de cLDL en sangre por debajo del valor que define el percentil 95 en población general de EEUU¹¹⁹. Estas poblaciones presentan baja incidencia de ECV y prácticamente en ninguno de ellos se detectaron XT.

1.7.1.3 DEPÓSITOS EXTRAVASCULARES DE COLESTEROL

Uno de los hallazgos más específicos de diagnóstico de heHF es la presencia de XT en la exploración física¹¹⁰⁻¹¹². También es muy característica la presencia de arco corneal que aparece en alrededor del 10 % de heHF antes de los 30 años y se considera un signo muy específico de la enfermedad en sujetos menores de 45 años. Su prevalencia aumenta con la edad y está presente hasta en el 50 % de los sujetos heHF mayores de 50 años¹¹².

Figura 1.13. Imagen ecográfica de un XT correspondiente a una paciente de 50 años afecta de HF



Material hipodenso entre la estructura fibrilar del tendón que se distingue con claridad de las estructuras adyacentes. Comparar con Figura 14.

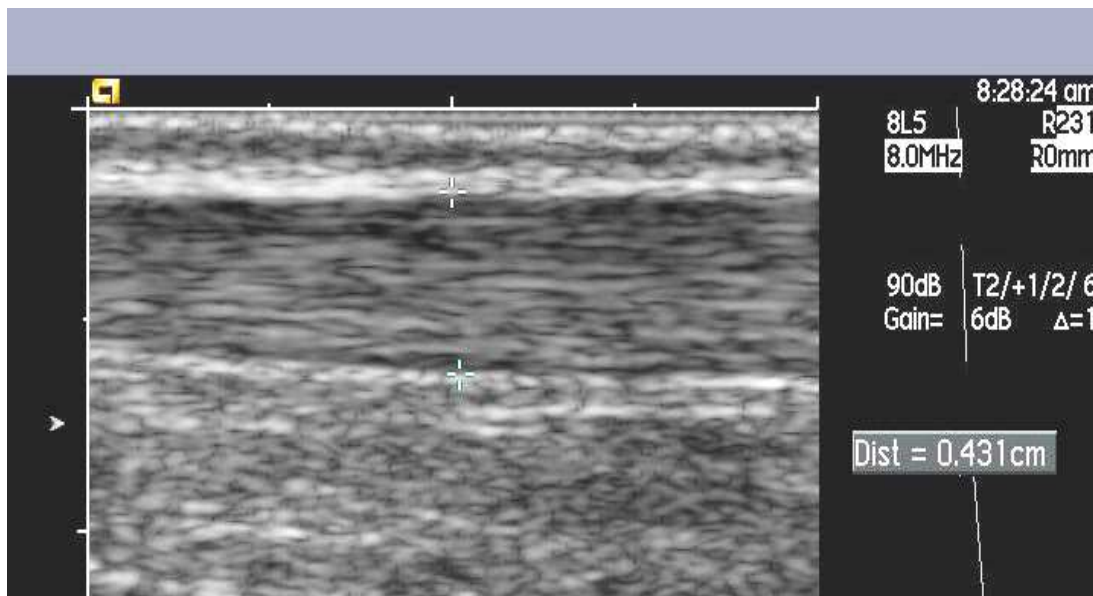
Los XT presentan en su estructura grandes similitudes con la lesión aterosclerótica. Se constituye por células inflamatorias, principalmente macrófagos y células espumosas, que se depositan tanto fuera como dentro de las fibras tendinosas¹²⁰ dando lugar a engrosamientos difusos o localizados dentro del tendón que en algunos casos pueden ser detectados mediante palpación o ecografía^{112, 121-122}. Con esta técnica se puede observar un tendón aumentado de tamaño junto con tejido hipoecogénico alojado entre las fibras que forman el tendón¹²¹ (figura 1.13. Comparar con figura 1.14). La localización más frecuente es el tendón de Aquiles (TA) si bien también pueden aparecer en tendones extensores de mano y en el tendón del tríceps braquial del brazo.

La aparición de XT es casi patognomónica de esta enfermedad. Se han descrito en otros trastornos del metabolismo de los lípidos con mucha menor prevalencia como en hiperlipoproteinemia tipo III, xantomatosis cerebro-

tendinosa y sitosterolemia. Aparecen a partir de la tercera década de la vida, entre el 20% y un 50% de sujetos con heHF^{111,122} siendo mucho más frecuentes y precoces en sujetos heHF homocigotos en quienes suele ser el primer signo de la enfermedad¹²³. Además de su valor diagnóstico sirven como marcador pronóstico ya que aquellos sujetos que presentan XT en la exploración física tienen mayor riesgo de sufrir un evento cardiovascular precoz (riesgo relativo de 2,23 en varones y 4,49 en mujeres con heHF y XT respecto a aquellos que no los presentan)¹²². Dentro de la exploración ecográfica, la valoración del grosor anteroposterior del TA ha demostrado ser la de menor variabilidad interobservador y la que mejor se correlaciona con detección clínica de XT. Según esta técnica se demostró mayor engrosamiento del TA en sujetos con heHF respecto a aquellos con hipercolesterolemia no asociada al LDLR, hiperlipemia familiar combinada (HFC) o normolipémicos^{122,124}.

Según los valores obtenidos al comparar distintos grupos de sujetos ha sido posible definir el límite en el grosor del tendón según edad y sexo a partir del cual se establece el diagnóstico de HF. Estos valores son 4,8 mm para mujeres y entre 5,3 y 5,8 mm para varones menores y mayores de 45 años respectivamente. La evaluación del TA mediante ecografía mejora la detección de XT y con ellos el diagnóstico de HF^{122, 124}. No se sabe con exactitud qué factores determinan el tamaño del tendón. La concentración de cLDL, junto con la edad, el sexo masculino y el peso se han asociado de forma independiente con el grosor del TA. No se observaron diferencias según la actividad residual del rLDL, concentraciones de Lp(a) o genotipo de apoE¹²⁴.

Figura 1.14. Imagen ecográfica del TA correspondiente a una paciente de 45 años no hipercolesterolémica.



Comparar las dimensiones del tendón y densidad del tejido con lo observado en la figura 13.

1.7.1.4 HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Se calcula que existen 10 millones de sujetos heHF en todo el mundo de los que menos de un 25% están tratados con fármacos hipolipemiantes¹²⁴. La tasa de mortalidad ajustada por edad y sexo en sujetos heHF es entre 4 y 5 veces mayor que en población general siendo atribuible en la mayoría de los casos a episodios de EC^{125,126}. La prevalencia de ictus sin embargo, es similar a la que presenta la población general¹²⁷. La EVP, diagnosticada por manifestaciones clínicas compatibles con claudicación en EEII o por el ITB igual o menor de 0,9 aparece hasta en el 30% a partir de los 50 años, tanto en varones como en mujeres, prevalencia que es diez veces mayor que la observada en población general después de ajustar los resultados por otros factores de riesgo¹²⁷.

Estas manifestaciones clínicas son similares en homocigotos aunque más precoces y agresivas. Se han descrito series de sujetos heHF homocigotos con aterosclerosis severa en arteria aorta y en coronarias en la primera y segunda década de la vida siendo el depósito de lípidos generalizado en todos los tejidos¹²³. En sujetos heHF la incidencia de ECV es más tardía, hacia la cuarta década de vida en varones y de la quinta en mujeres¹²⁶. Entre pacientes con hipercolesterolemia severa e historia familiar de ECV precoz la presencia de mutación en el LDLR está asociada con mayor riesgo de ECV^{127, 128}.

Existe gran heterogeneidad en las manifestaciones clínicas entre sujetos con idéntico defecto genético e idéntica concentración de cLDL¹²⁸. La incidencia de ECV en estudios poblacionales de sujetos con heHF se sitúa alrededor del 25%^{116-117,126}. En sujetos heterocigotos sin tratamiento efectivo el riesgo acumulado de EC los 60 años es al menos del 50% en varones y del 30% en mujeres¹¹⁶. En un estudio en población holandesa en el que se examinó a más de 1000 niños descendientes de pacientes con heHF, se observaron concentraciones más altas de cLDL y de Lp(a) y más bajas de cHDL al comparar a aquellos con historia familiar de ECV respecto a aquellos sin manifestaciones clínicas¹²⁹.

Los estudios realizados en España han confirmado la mayor benignidad de este trastorno en nuestro medio con menor prevalencia de ECV y menor detección de XT con respecto a sujetos con heHF en otras localizaciones geográficas^{116, 126, 128}, si bien el riesgo de padecer ECV es también 4 veces mayor respecto a población general española. La prevalencia de ECV en población heHF española fue del 22,3%. Un 84,4% de los primeros episodios fueron diagnosticados de ECV, el 9,4 % correspondió a afectación vascular periférica y un 6,2 % a afectación del territorio de arteria carótida¹¹⁶.

Los factores de riesgo clásicos asociados a la incidencia de CI también ejercen su influencia en sujetos HF^{125, 128}. La incidencia de ECV fue el doble en varones respecto a mujeres en población heHFespañola¹¹⁶. Al menos un 25% de los varones portadores de mutación en el gen del LDLR sufrirán un evento CV antes de los 45 años¹²⁸. Otros factores asociados a la aparición de ECV en esta población fueron la edad, HTA, tabaquismo e IMC en mujeres. También presentaron el doble de riesgo aquellos que presentaban XT respecto a los que no los presentaban y aquellos con un cHDL menor de 35 mg/dl en el subgrupo de sujetos con CT mayor de 300 mg/dl¹¹⁶. En otras poblaciones con baja incidencia de ECV como la japonesa un 23% de los sujetos con heHF presentó CI mientras que sólo en el 3% de los sujetos las manifestaciones clínicas correspondieron con ECBV¹¹⁷. Recientemente también se ha demostrado la relación entre la actividad residual del rLDL y la prevalencia de ECV siendo mayor en aquellos sujetos con actividad nula¹³⁰. En estos mismos estudios, no se encontró relación entre ECV y otros factores de riesgo emergentes como homocisteína, Lp(a), fibrinógeno, hematocrito, inhibidor del activador de plasminógeno-1 o recuento de células blancas.

1.7.2 OTRAS CAUSAS DE HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR NO ASOCIADAS AL RECEPTOR LDL

Existen otras formas de hipercolesterolemia familiar producidas por alteraciones en otras vías del metabolismo del colesterol (figura 15). Su prevalencia es baja y según los conocimientos disponibles hasta el momento se limita a pequeños grupos familiares. También existe un porcentaje no despreciable de casos de hipercolesterolemia con agregación familiar en los que no se ha llegado a identificar un defecto responsable.

1.7.2.1 ALTERACIONES DE PCSK9

Se ha detectado defectos en este gen causantes de hipercolesterolemia monogénica con patrón hereditario autosómico dominante. Este gen codifica la proteína PCSK9 (protein convertasa subtilisin/kexin type 9) y se localiza en el cromosoma 1p34.1-p32. En condiciones normales, regula la cantidad de colesterol introducido dentro de la célula controlando la degradación del rLDL en el lisosoma de la célula¹³¹. Hasta este momento se han detectado once mutaciones en el gen de PCSK9 dan lugar a dos fenotipos diferentes: aumento de cLDL circulante con mayor incidencia de CI o bien disminución de cLDL respecto a sujetos controles siendo este un factor protector de ECV¹³⁶. El aumento en la función de esta proteína aumenta la degradación del rLDL lo que produce una disminución en el número de receptores en la superficie de la célula¹³².

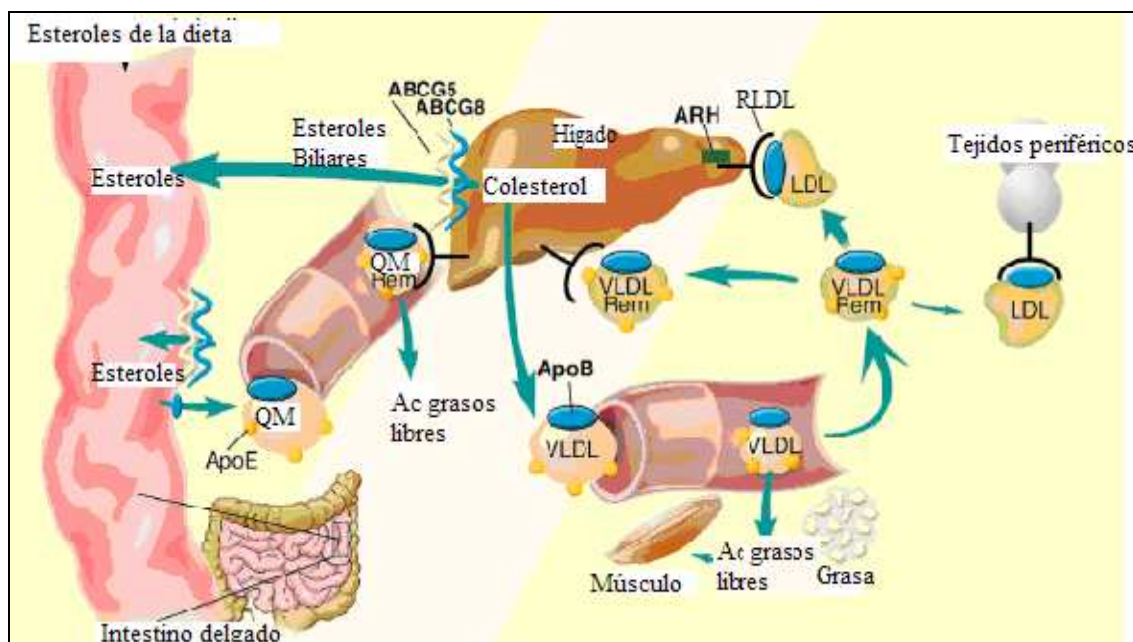
1.7.2.2 HIPERCOLESTEROLEMIA AUTOSÓMICA RECESIVA (ARH)

Se ha descrito una forma de hipercolesterolemia genética no asociada con la disminución en la actividad de rLDL pero si con la deficiente internación del rLDL una vez unido a la lipoproteína¹³³. Presenta un patrón hereditario autosómico recesivo y los pocos casos detectados se han producido en familias con alto grado de consanguinidad. Estos sujetos presentan un fenotipo similar al de HF homocigota: altas concentraciones de cLDL junto con XT y ECV precoz en la mayoría de los casos. La proteína defectuosa se sintetiza a partir de un gen localizado en el brazo corto del cromosoma 1 (1p35) del que hay descritas unas 10 mutaciones.

1.7.2.3 DÉFICIT DE COLESTEROL 7 α HIDROXILASA (CYP7A1)

El déficit de 7 α hidroxilasa, primer enzima en la cadena de síntesis de ácidos biliares, es una alteración descrita en los últimos años como causa de hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia. No se sabe con seguridad cual es su papel en las hipercolesterolemias hereditarias¹¹⁰.

Figura 1.15. Esquema del metabolismo del colesterol donde se señalan los pasos alterados en las distintas causas de hipercolesterolemia.



Modificado de Rader et al. Monogenic hypercholesterolemia: New insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest* 2003;111:1795-1803

1.7.2.4 SITOSTEROLEMIA FAMILIAR

La sitosterolemia es una forma rara de hipercolesterolemia en la que se produce un aumento de sitosterol (esteroides vegetales) en y colesterol normal o alto en plasma de sujetos con padres normocolesterolémicos. Este trastorno se produce por una doble mutación de los cotransportadores de colesterol ABCG5 o ABCG8 localizados en la membrana del enterocito y el hepatocito por lo que

aumenta la absorción de fitosteroles de la dieta. Hasta el momento se han descrito más de 25 mutaciones que dan lugar a este trastorno. Muchos de estos pacientes presentan concentraciones elevadas de cLDL desde la infancia y con frecuencia xantomas plantares, XT, estenosis aórtica y enfermedad isquémica coronaria prematura por acumulación de fitosteroles en los tejidos¹¹⁰.

1.7.2.5 HIPERLIPOPROTEINEMIA (a)

La lipoproteína (a) (Lpa) es una lipoproteína cuya función fisiológica es desconocida. Está formada por la unión covalente entre una molécula de apo B-100 y una de apolipoproteína (a) (apo a). Esta última está formada por varias subunidades en forma de lazo o “kringle” que se repiten, con más de un 75% de homología con el plasminógeno lo que se ha postulado pudiera conferirle un efecto protrombótico, si bien esta propiedad se ha demostrado sólo “in vitro”. Su concentración plasmática se relaciona con la síntesis hepática de apo (a) y con el tamaño de sus isoformas, de modo que, aquellas con menor peso molecular se secretan mucho más rápidamente y su concentración en sangre es mayor. Lo inverso ocurre con aquellas isoformas más grandes. Las características de la Lp(a) de cada individuo se transmiten de forma autosómica dominante y su concentración en sangre oscila entre 0 y 250 mg/dl¹³⁴.

La asociación de Lp(a) con el riesgo cardiovascular es controvertida. En sujetos hipercolesterolémicos jóvenes de sexo masculino se mostró como marcador de riesgo a partir de valores superiores a 30 mg/dl¹³⁵. En un estudio de seguimiento realizado recientemente en el que se han incluido casi 10.000 individuos pertenecientes a población general, el aumento de las concentraciones de Lp(a) se asoció a mayor mortalidad cardiovascular para ambos sexos después de ajustar los resultados por otros factores de riesgo sin existir un valor umbral para este efecto^{136, 137}.

Recientemente se ha descrito la hiperlipoproteinemia (a) como causa de hipercolesterolemia con agregación familiar¹³⁶. También se encuentra elevada en sujetos con heHF según distintas series si bien tampoco en esta población está claro su papel como factor de riesgo cardiovascular^{128, 134}.

1.7.3 HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

1.7.3.1 DEFINICIÓN Y DIAGNÓSTICO

La HFC fue descrita por primera vez en 1973 como la dislipemia familiar más frecuentemente detectada en sujetos menores de 60 años supervivientes tras IAM^{138,139}. En esta primera descripción se observó la coexistencia de diferentes fenotipos (IIa, IIb, IV o V) en el perfil lipoproteico de miembros de una misma familia e incluso en un mismo sujeto a lo largo de la vida con una alta prevalencia de ECV y una afectación del 50% en la descendencia del individuo afecto¹³⁸

En el estudio de estas familias se detectó un claro patrón bimodal en la distribución de TG, uno similar al de la población control (sujetos no afectados) y otro con valores de TG elevados. Los valores de CT presentaron una distribución unimodal con valores medios más elevados que en sujetos control⁵¹. El perfil lipoproteico característico en la mayoría de estos pacientes es un aumento de partículas de VLDL acompañado de una alteración en la eliminación de partículas ricas en TG de las que derivan posteriormente moléculas de LDLpd y bajas concentraciones de cHDL⁵². A diferencia de la heHF no se detectaron alteraciones en las concentraciones en el perfil lipídico de estos sujetos hasta la tercera o cuarta década de la vida que además, fue menos consistente que en sujetos con heHF. En un estudio de 248 familias afectas de HFC evaluadas basalmente y a los 20 años, hasta un tercio de los

sujetos variaron en su fenotipo lipídico entre normolipemia y dislipemia. Los principales factores asociados de forma positiva con el diagnóstico de HFC fueron la edad, el IMC, el menor tamaño de LDL y la concentración de apoB¹⁴⁰.

A pesar de que su patrón de herencia sugiere el de una enfermedad monogénica todavía no se ha detectado un gen responsable de esta enfermedad en la que los factores ambientales. El diagnóstico de HFC se establece por una serie de criterios clínicos sin que exista una prueba inequívoca para confirmar el diagnóstico. Clásicamente se ha considerado este diagnóstico en sujetos con concentraciones de CT y TG por encima del percentil 90 ajustados por edad y sexo¹⁴¹⁻¹⁴³ con al menos un familiar de primer grado con dislipemia tipo IIa, IIb o IV o ECV precoz. Uno de los marcadores que ha demostrado mayor especificidad para detectar sujetos con HFC ha sido el aumento de moléculas de LDLpd y las concentraciones de apo B mayores de 120 mg/dl que se mantienen elevadas en edades tempranas de la vida e incluso cuando la concentración de CT y TG son normales. La concentración de apo B se correlaciona no sólo con las concentraciones de cLDL sino también con las de cVLDL¹⁴¹ Estos criterios mejoran además la sensibilidad y especificidad para detectar sujetos con mayor riesgo cardiovascular¹⁴⁴

1.7.3.2 HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La HFC es la forma más común de dislipemia familiar con una prevalencia estimada del 1 al 5 % en población general y hasta del 14% de los sujetos con CI prematura^{51,143}. En el seguimiento llevado a cabo en los familiares de sujetos con HFC supervivientes de un evento coronario, incluidos en el estudio inicial de Goldstein et al se detectó un aumento de riesgo del 70 % de sufrir muerte por ECV respecto a los sujetos controles después de ajustar los resultados por edad,

sexo, HTA y tabaquismo. En este estudio la prevalencia de SM fue del 70 % en los sujetos con dislipemia familiar frente a un 18% en controles. Además, el riesgo relativo de CI precoz fue 3,51 veces mayor respecto a sujetos sin dislipemia¹³⁸. En un estudio de Hopkins et al de similares características en el que se incluyeron 627 familias (334 con un familiar afecto de ECV precoz y 293 sin historia familiar de ECV) el riesgo relativo de CI precoz fue similar para sujetos con HFC e HTG familiar (sujetos con historia personal y familiar de elevación aislada de TG no secundaria a otros factores como DM o consumo de alcohol), siendo el doble que la presentada por sujetos controles de esa misma población¹⁴⁵. Dada su alta prevalencia y la alta incidencia de ECV que le acompaña es de gran importancia el diagnóstico y tratamiento precoz de los sujetos que presentan este trastorno.

1.8 DIAGNÓSTICO DE ATEROSCLEROSIS SUBCLÍNICA COMO MARCADOR SUBROGADO DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La valoración del riesgo cardiovascular de cada individuo se ha convertido en uno de los objetivos primordiales de la medicina actual. Los algoritmos utilizados hasta el momento para este propósito derivan de los principales estudios epidemiológicos prospectivos realizados hasta el momento con este objetivo: Framingham Heart Study¹⁴⁶, en población de EEUU y PROCAM, en población alemana¹⁴⁷.

A pesar del avance conseguido en la prevención de ECV en las últimas décadas, existe una alta proporción de sujetos que debutan con un evento isquémico vascular no clasificados como de alto riesgo por los algoritmos

disponibles actualmente. De hecho, se estima que hasta un 50% de los eventos isquémicos cardiovasculares ocurren en sujetos con valores de CT considerados normales y hasta un 50% en sujetos sin FRCV conocidos.^{148, 149} Con las nuevas técnicas de imagen no invasivas implementadas en los últimos años, además de los algoritmos diagnósticos de ECV disponibles hasta el momento, se ha intentado mejorar la detección de aquellos individuos más susceptibles de presentar un evento cardiovascular.

Las características de las técnicas de imagen como marcadores subrogados de aterosclerosis se resumen en su capacidad de detectar enfermedad antes de que se produzcan eventos clínicos, valorar el ritmo de progresión de la enfermedad y monitorizar el efecto de las terapias dirigidas a ralentizar o disminuir la evolución de la enfermedad.

1.8.1 MARCADOR SUBROGADO DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

El marcador subrogado de un proceso fisiopatológico debe cumplir una serie de condiciones. En primer lugar, ser marcador de un proceso biológico que posea al menos una característica medible por procedimientos objetivos. En segundo lugar, la modificación de dicho marcador debe estar en relación con la expresión clínica de dicha enfermedad de modo que refleje cómo la prevalencia de eventos clínicos y la supervivencia. En tercer lugar, debe ser capaz de predecir el beneficio clínico (o la falta de beneficio) al compararse con estudios epidemiológicos, terapéuticos, fisiopatológicos o por otras evidencias clínicas. Se espera que los cambios en el marcador sustituto secundarios al tratamiento reflejen cambios en los marcadores clínicos establecidos como objetivos del estudio¹⁵¹⁻¹⁵³.

Tabla 1.2. Comparación entre nuevos métodos de diagnóstico de aterosclerosis.

Técnica (End Point)	Ventajas	Desventajas	Validación
Angiografía coronaria (Cambio en score coronario, cambio en porcentaje de estenosis máx.)	Procedimiento de uso común en la clínica. Experiencia en ensayos clínicos	Técnica invasiva Sólo información del tamaño de la luz arterial Cambios de la luz arterial son relativamente lentos (tras años de tratamiento) Exposición a radiación	Asociado con eventos cardiovasculares Marcador sustituto aceptado
Grosor intima-media (GIM) de arteria carótida (GIM medio)	No invasivo Amplia disponibilidad Experiencia en ensayos clínicos Bajo coste	Cambios lentos (tiempos estudio más de 2 años) Cierta dificultad técnica No estudia arterias coronarias No siempre detecta placa	Asociado con factores de riesgo cardiovascular, enfermedad coronaria y eventos cardiovasculares
Tomografía computada por haz de electrones (Agastont score)	No invasiva Fácil de usar	Reproductibilidad limitada Escaso uso en ensayos clínicos multicéntricos	No relación clara con modificación riesgo cardiovascular
Ecografía de arteria braquial (dilatación de arteria braquial dependiente del flujo)	No invasiva Respuesta rápida (días/semanas de tratamiento) Experiencia en ensayos clínicos Bajo coste	Protocolos no estandarizados Afectación por factores ambientales No estudia arterias coronarias Estudia segmentos cortos para reducir variabilidad	Posible asociación con factores de riesgo Poca fiabilidad en estudios de evolución
Ecografía intracoronaria (Cambio absoluto y porcentual en volumen de placa, cambio en porcentaje de ateroma)	Imagen directa de enfermedad Protocolos estandarizados Experiencia en ensayos clínicos	Técnica invasiva Dificultad en valorar composición de la placa Valora anatomía, no función	Asociación con eventos cardiovasculares en algunos estudios
Resonancia magnética nuclear de arteria carótida (cambio en área media pared del vaso)	No invasivo Posibilidad estudio característica de la placa	Necesidad de protocolo estandarizado No valoración de arteria coronaria	No validado con eventos clínicos
Tomografía- angiografía coronaria (cambio en porcentaje de estenosis en cada segmento)	No invasivo Rápida obtención	Escaso uso en ensayos clínicos Exposición a radiación Equipo no disponible de forma generalizada	No validado con eventos clínicos

Modificado de Tardif et al. Vascular biomarkers and surrogates in cardiovascular disease. *Circulation* 2006; 113:2396-42

En la tabla 1.2 se resumen las características de las principales técnicas de imagen implementadas en los últimos años con la intención de mejorar el estudio de la enfermedad aterosclerótica y la estratificación del riesgo de cada individuo. De todas ellas la ecografía de arteria carótida, la función endotelial, el índice tobillo-brazo y el “calcium score” de arterias coronarias son las que presentan una mejor aplicación práctica en el screening y estratificación de riesgo cardiovascular de grandes grupos poblacionales¹⁵³

1.8.2 TOMOGRAFÍA COMPUTERIZADA CON HAZ DE ELECTRONES

La tomografía computarizada de arterias coronarias (MSCT) permite detectar lesiones ateroscleróticas calcificadas en arterias coronarias. Se ha demostrado la correlación entre el número de calcificaciones y la extensión de la aterosclerosis coronaria medida mediante angiografía coronaria¹⁵⁴. La cuantificación de calcio coronario mayor de 0 se correlaciona con la incidencia de nuevos eventos coronarios sin embargo, no se ha observado variación del calcium score tras doce meses de tratamiento hipolipemiente a pesar de haberse detectado diferencias en el número de eventos clínicos¹⁵⁵. Su gran utilidad radica en el valor predictivo negativo observado cuando el Calcium Score es igual a cero. Esta técnica ha permitido demostrar diferencias en la extensión de la calcificación de arterias coronarias con la edad y sexo¹⁵⁴.

Una versión mejorada de esta técnica ha permitido obtener imágenes completas del trayecto de todo el árbol coronario con diámetro superior a 2 mm siendo capaz de detectar no sólo calcificaciones sino estenosis de la arteria producidas por placas hipodensas¹⁵⁶. Su validez para detectar lesiones con significación clínica en sujetos con dolor torácico es controvertida. En un estudio prospectivo a gran escala llevado a cabo recientemente se obtuvo un menor valor predictivo negativo con esta técnica respecto a la angiografía

convencional por lo que no parece estar aconsejado su uso excepto en aquellos sujetos con probabilidad baja de desarrollar ECV¹⁵⁶. La resonancia magnética nuclear permite la caracterización en la composición de la placa aterosclerótica, diferenciando con gran precisión su composición, sin embargo el pequeño tamaño de las arterias coronarias, el continuo movimiento del corazón y el alto coste de esta técnica la hacen poco aplicable por el momento en la caracterización de las lesiones ateroscleróticas de arterias coronarias¹⁵⁷.

1.8.3. FUNCIÓN ENDOTELIAL: VASODILATACIÓN DE ARTERIA BRAQUIAL DEPENDIENTE DEL FLUJO

La variación del diámetro arterial tras hiperemia secundaria a vasoconstricción arterial permite valorar la función de las células endoteliales en la homeostasis del flujo arterial. La hiperemia reactiva a un estímulo mecánico vasoconstrictor induce un aumento del flujo sanguíneo y de la presión en la pared vascular que estimula la liberación de ON. La estrecha relación que existe entre la alteración en la dilatación de la arteria braquial y de arteria coronaria secundaria a estímulos vasomotores indica la naturaleza universal de la aterosclerosis. Estos hallazgos sugieren la posible utilidad de esta técnica para evaluar el efecto nocivo de determinados factores de riesgo en el comienzo de la aterosclerosis así como los posibles efectos beneficiosos del tratamiento con estatinas para prevenir la progresión de esta enfermedad^{158, 159}.

La disfunción endotelial también está relacionada con la incidencia y prevalencia de ECV^{160, 161}. En un estudio prospectivo, con un seguimiento medio de 28 meses, se ha comprobado como una alteración grave de la función endotelial está asociada con el aumento de eventos cardiovasculares mientras que el tratamiento con estatinas mejoró la función endotelial tanto en sujetos con enfermedad coronaria¹⁶² como aquellos sin ECV previa¹⁶³. En estudios más

prolongados la disfunción endotelial se relacionó con la progresión de aterosclerosis y la incidencia de ECV tras un seguimiento de 7,7 años, siendo significativa incluso después de ajustar los resultados por los principales FRCV¹⁶⁰. A su vez, el tratamiento con estatinas mejora la dilatación arterial dependiente del endotelio observándose respuesta favorable en un corto periodo de tiempo en zonas con alteración de la perfusión mientras que las variaciones en el flujo arterial en segmentos de arteria no dañados fue mínimo¹⁶³. Estos mismos resultados no son tan concluyentes en sujetos con elevaciones moderadas de cLDL en los que a pesar del tratamiento hipolipemiante no se observó ninguna mejoría en la función endotelial.

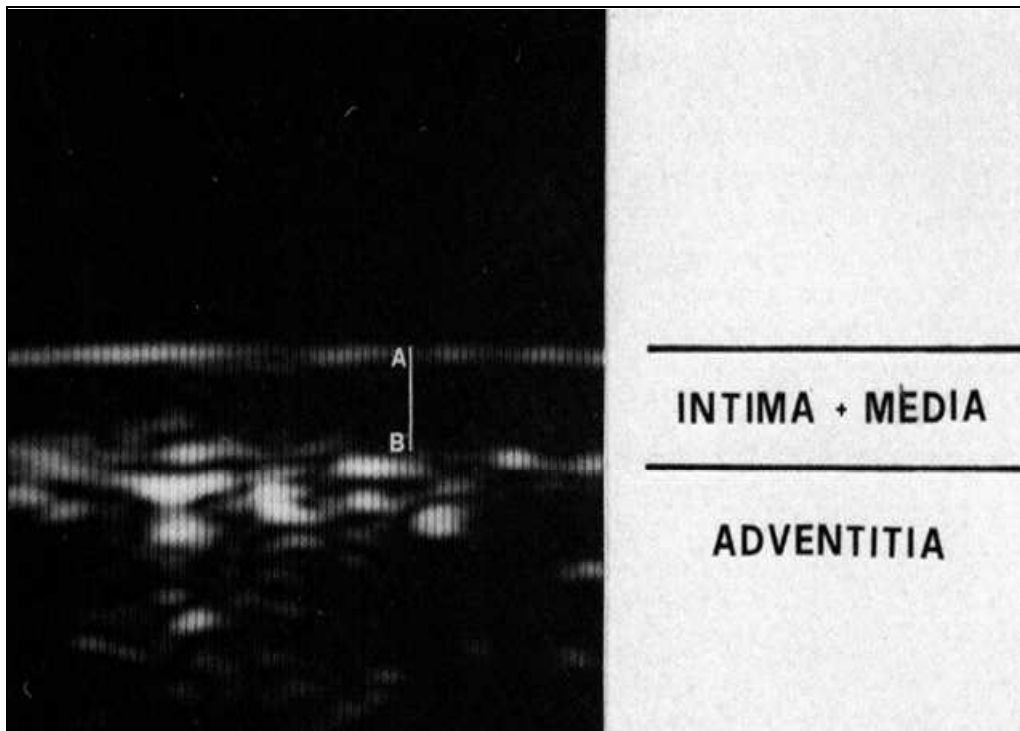
Su uso como predictor de ECV se ciñe a estadios muy iniciales de la enfermedad¹⁵⁷. Las principales limitaciones de esta técnica es la variación de la respuesta en presencia de una amplia gama de estímulos como el café, tabaco o según las condiciones ambientales o del individuo.

1.9 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA COMO TÉCNICA DIAGNÓSTICA DE ATHEROSCLEROSIS PRECLÍNICA

Las nuevas técnicas de imagen han permitido el estudio morfológico de lesiones ateroscleróticas “in vivo” por medio de exploraciones no invasivas. Pignoli et al¹⁶⁴ desarrollaron un método para el estudio de lesiones ateroscleróticas mediante ecografía, demostrando la posibilidad de cuantificar el engrosamiento de la pared arterial desde estadios iniciales de la lesión hasta lesiones más avanzadas. En dicho trabajo se observó una alta concordancia entre los hallazgos histológicos y las imágenes obtenidas mediante ecografía en

modo B del engrosamiento de la pared de arteria aorta y carótida tanto en cadáveres como en sujetos vivos.

Figura 1.16. Imagen de la pared de arteria aorta de cadáver obtenida mediante ecografía



Pignoli et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation* 1986;74(6):1399-1406.

Las líneas hiperecogénicas corresponden al límite entre la luz vascular y la capa íntima (superior) y al límite de la capa media y adventicia (inferior). Entre ambas queda un espacio hipoeecogénico correspondiente a la capa media

Se ha observado una mayor precisión en las mediciones y correlación con los datos obtenidos en pared posterior con respecto a la pared anterior por lo que es la que se ha elegido para realizar mediciones en la mayoría de estudios.

A partir de esta exploración se definieron los límites ecográficos del grosor íntima-media (GIM). El comienzo de la capa íntima corresponde con la

superficie endotelial, mientras que la transición entre el final de la capa media y el comienzo de la adventicia corresponde histológicamente con una lámina de fibras elásticas que en la mayoría de los segmentos arteriales forman la lámina elástica externa²². Al ser visualizadas mediante ecografía en modo B dibujan dos líneas hiperecogénicas separada por un espacio hipoecogénico que corresponde al espesor de las capas íntima y media de la pared arterial (figura 1.16).

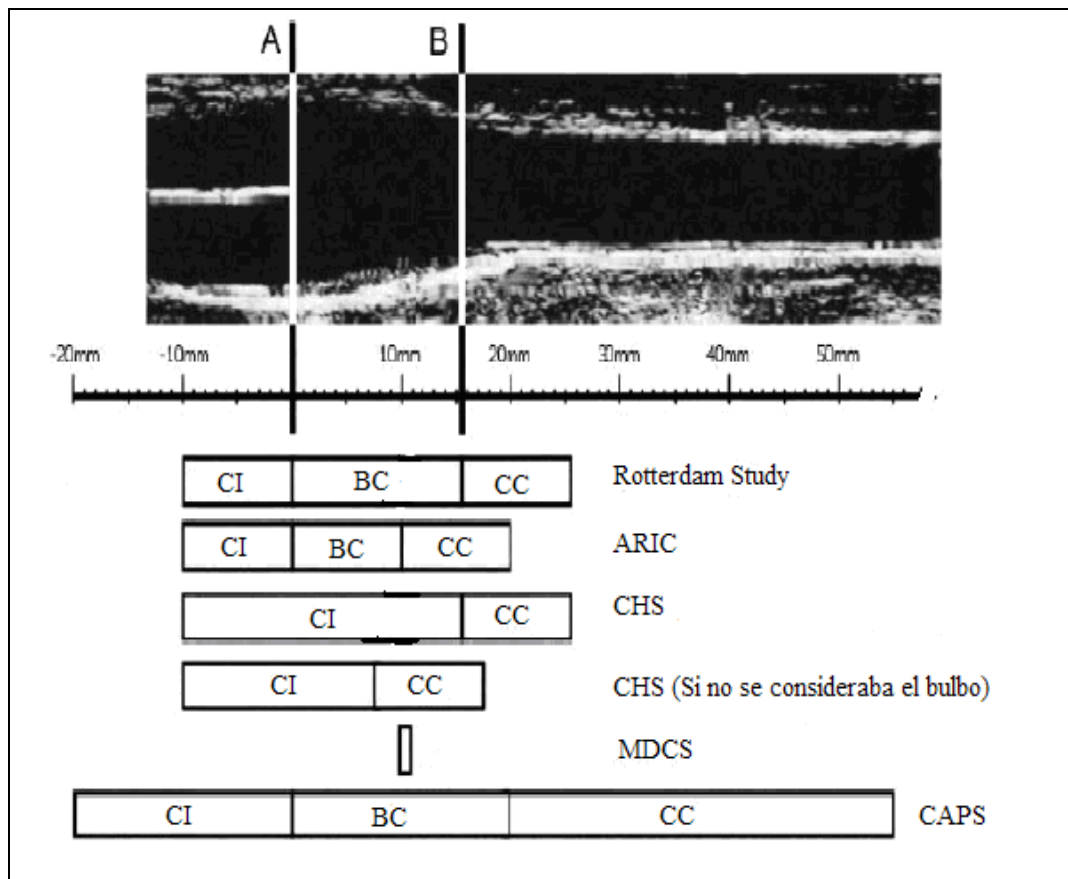
No se ha establecido cuál de ellos es el más adecuado por lo que se han utilizado tanto los valores medios como los máximos obtenidos en las mediciones de tres segmentos distintos de la arteria carótida: carótida común (CC), bulbo (BC) y arteria carótida interna (CI). Tras más de dos décadas y con numerosos estudios utilizando el GIM como marcador subrogado de ECV es necesario homogeneizar los protocolos empleados (segmentos valorados, límite de cada uno de ellos, protocolo de medición) de manera que sean comparables los resultados obtenidos en distintas poblaciones (figura 1.17)¹⁶⁵.

1.9.1 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

El primer gran estudio que demostró la relación entre los valores basales del GIM de arteria carótida (GIMc) y la prevalencia de ECV fue el estudio ARIC¹⁶⁶. Se evaluaron 13870 sujetos entre 45 y 64 años originarios de cuatro zonas de EEUU, incluyéndose una subpoblación de sujetos de raza negra. Se compararon los valores de GIMc de CC, BC, CI y arteria femoral con la prevalencia de ECV en territorio coronario. Tras un seguimiento medio de 4 años, los resultados mostraron de forma consistente un mayor GIMc en aquellos sujetos con ECV respecto a aquellos sin clínica compatible, si bien la incidencia de episodios aterotrombóticos durante el estudio fue pequeña. Los valores de GIMc obtenidos al inicio del estudio se correlacionaron de forma positiva con el

número de eventos cardiovasculares ocurridos durante los cuatro años de seguimiento.

Figura 1.17. Imagen de arteria carótida obtenida mediante ecografía



Modificado de Lorenz et al *Circulation* 2007;115:459-67

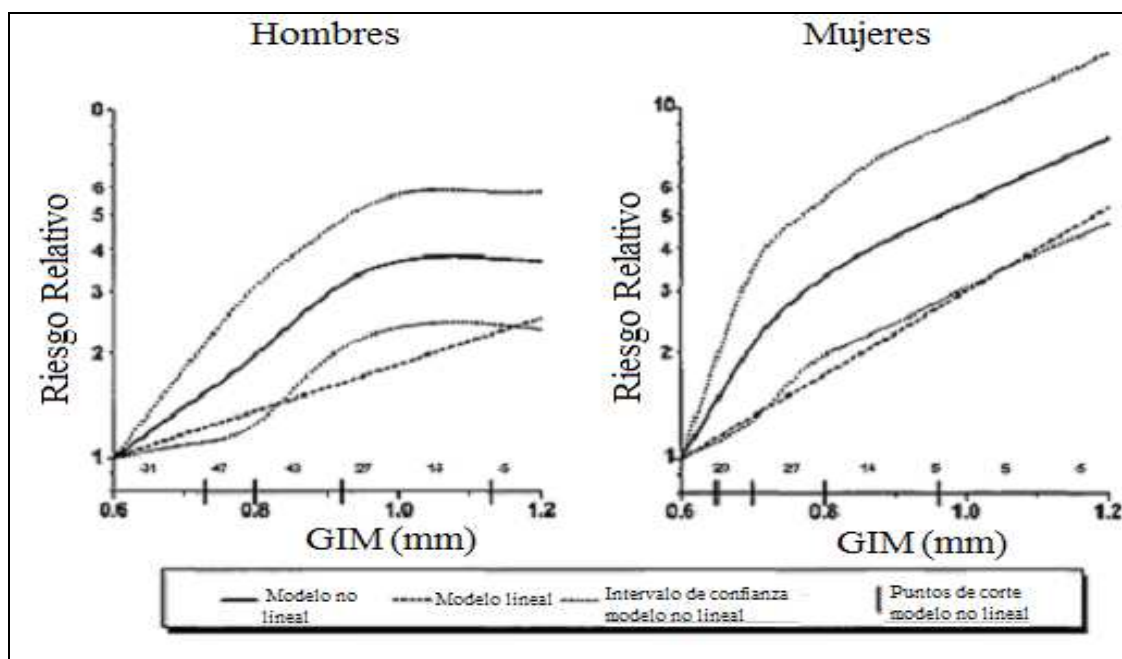
Segmentos de arteria estudiados y la nomenclatura utilizada en los principales estudios poblacionales llevados a cabo con esta técnica.

A= punto que indica el final del BC y comienzo de CI. B = límite entre BC y CC. En la parte inferior, límites de cada segmento según el estudio. CI = arteria carótida interna, BC = bifurcación o bulbo de carótida, CC = arteria carótida común.

ARIC = Atherosclerosis risk in communities, CHS = Cardiovascular Health Study, MDCS = Malmö Diet and Cancer Study Subcohort, CAPS = Carotid atherosclerosis progression Study. PS = Carotid Atherosclerosis Progression Study

Otro gran estudio epidemiológico realizado en población general fue el estudio Rotterdam. En este caso se incluyeron 11800 individuos mayores de 55 años residentes en Rotterdam (Holanda) seguidos durante una media de 2,7 años. También en este caso se encontró una relación estadísticamente significativa entre el GIMc y la prevalencia de ECV¹⁶⁷. Tanto en el estudio ARIC como posteriormente en la revisión de Lorenz et al¹⁶⁵ se observó una relación no lineal entre el GIMc y la incidencia de ECV (figura 1.18), siendo mayor el riesgo relativo en sujetos jóvenes que en aquellos de mayor edad¹⁶⁸. Por el contrario, el riesgo absoluto fue menor en el primer grupo como sería de esperar en sujetos sin FRCV^{166,168}. Aquellos pacientes de mayor edad y GIM aumentado presentaron también mayor prevalencia de FRCV y mayor vigilancia médica lo cual podría disminuir su riesgo más de lo que correspondería a su grado de aterosclerosis^{165,168}.

Figura 1.18. Modelos de asociación entre GIM y riesgo de enfermedad coronaria en el estudio ARIC tras un seguimiento de 4 a 7 años.



Modificado de Chambless et al. ARIC study. *Am J Epidemiol* 1997;146: 483-94

Todos estos resultados comenzaron a hacer considerar el GIMc un marcador subrogado de especial interés para valorar con mayor precisión el riesgo cardiovascular en sujetos de edad media clasificados como de riesgo cardiovascular intermedio según los algoritmos basados únicamente en la medición de FRCV clásicos^{166,167}.

En la mayoría de estudios a gran escala en los que se utilizó el GIMc se observaron diferencias en las mediciones obtenidas en sujetos que durante su vida habían desarrollado enfermedad isquémica coronaria (figura 1.19) y cerebral (figura 1.20) respecto a aquellos sin ECV conocida. El grado de asociación disminuyó tras ajustar los resultados por los principales FRCV pero siguió siendo estadísticamente significativo. Estos resultados son lógicos ya que la detección del engrosamiento de la pared arterial es un fenotipo intermedio en el desarrollo de aterosclerosis¹⁶⁷. Aunque en sentido estricto no sería necesario ajustar los datos de GIMc con respecto a otros factores de riesgo, este tipo de cálculos son necesarios para determinar la capacidad de esta técnica de predecir eventos cardiovasculares de forma independiente.

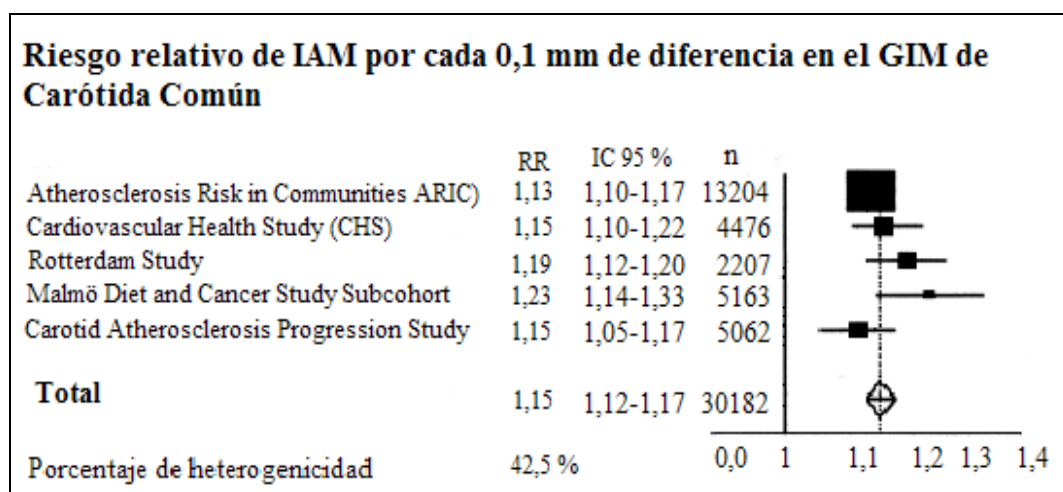
Otro estudio realizado en 5056 sujetos alemanes entre 19 y 90 años, seguidos durante 4,2 años reveló asociación positiva entre GIMc y la incidencia de eventos cardiovasculares (IAM, ACBV o muerte por dichas causas) sin detectarse diferencias en el valor predictivo de los distintos segmentos evaluados. La inclusión de sujetos en un intervalo de edad mayor (entre 19 y 90 años) permitió demostrar el valor predictivo de esta técnica para cualquier edad. También permitió detectar diferencias en cuanto a la evolución de la aterosclerosis siendo mucho mayor el riesgo relativo en sujetos menores de 50 años que en aquellos mayores de 50 años si bien el riesgo absoluto fue mayor en el segundo grupo respecto al primero¹⁶⁸.

1.9.1.1 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y ENFERMEDAD CORONARIA

En sucesivos estudios prospectivos realizados en población general se ha demostrado la asociación entre GIMc y la incidencia de EC. En 1993 Salonen et al. demostraron la fiabilidad de la medición del GIMc como herramienta válida en estudios prospectivos de arteriosclerosis y compararon por primera vez los valores de GIMc con la incidencia de IAM tras dos años de seguimiento de 1257 varones sin ECV conocida¹⁶⁹.

Posteriormente en el estudio Rotterdam, se compararon las características de aquellos sujetos con historia de IAM respecto de aquellos sin ECV previa en población mayor de 55 años con un seguimiento medio de 2,7 años. Se observó mayor GIM en CC de aquellos sujetos que sufrieron un IAM respecto a aquellos que no lo padecieron¹⁶⁷.

Figura 1.19. Comparación del riesgo relativo de IAM detectado en distintos estudios prospectivos de GIM en población general tras ajustar los resultados por edad y sexo



Modificado de Lorenz et al. *Circulation* 2007;115:459-67.

Según los resultados obtenidos, una diferencia en el grosor de la pared arterial de una desviación estándar (0,163 mm) se asoció con un aumento de riesgo de un 25% tanto en varones como en mujeres tras ajustar los resultados por los principales FRCV. Sin embargo, la asociación entre GIMc e IAM no mostró un patrón lineal, sino que el riesgo apareció ostensiblemente aumentado en aquellos sujetos con un GIMc en el quintil superior (a partir de 0,9 mm) con un riesgo relativo de 2,32 con respecto a aquellos sujetos en el primer quintil. Un seguimiento más prolongado de la misma población demostró mayores diferencias en el riesgo relativo de desarrollar un IAM. El valor predictivo fue similar para cualquier segmento de arteria carótida¹⁶⁷.

En el estudio ARIC se realizó un seguimiento entre 4 y 7 años de sujetos entre 45 y 65 años sin ECV previa. En esta ocasión se comparó el GIMc promedio de los tres segmentos de ambas arterias carótidas. Según los hallazgos de este estudio, un engrosamiento de la pared arterial mayor de 1 mm aumentaba el riesgo de EC con un riesgo relativo de 5,07 para aquellas mujeres con GIMc mayor de 1 mm con respecto a aquellas con un engrosamiento menor de 1 mm. La misma comparación en varones mostró un riesgo relativo de 1,87. Para un aumento del GIMc de 0,19 mm se observó un aumento del riesgo relativo que difería según el segmento valorado, siendo de 1,46 en CC, 1,27 en BC y 1,15 en CI tras ajustar los resultados por edad, tabaquismo, PAS, cHDL, y la relación cHDL/cLDL. El aumento de riesgo, tomando la media de todos los segmentos fue del 38 %. El riesgo ajustado fue mayor para varones respecto a mujeres con GIMc menor de 1 mm. A partir de estos valores el riesgo se hizo similar para ambos sexos (figura 1.18)¹⁶⁶.

En otro estudio posterior, O'leary et al evaluaron una cohorte de 5201 sujetos mayores de 65 años sin historia previa de ECV seguidos durante 6,2

años. En este caso se escogieron los valores máximos de CC, BC y CI. Tras dividir los valores de GIMc en quintiles se observó una incidencia de ECV del 25% en el grupo de sujetos pertenecientes al quintil superior frente a un 5% entre aquellos que formaban parte del quintil inferior. La incidencia anual de ECV aumentó con la misma intensidad para cada quintil de GIMc. En el caso de eventos coronarios el segmento con mejor predicción fue CI¹⁷⁰. La diferencia de riesgo entre los grupos siguió siendo significativa tras ajustar los valores por los principales FRCV por lo que su uso puede mejorar el poder predictivo de ECV en sujetos dentro de ese intervalo de edad. En este caso, se utilizaron los valores de GIMc de pared anterior y posterior lo cual mejoró el poder predictivo de la muestra.

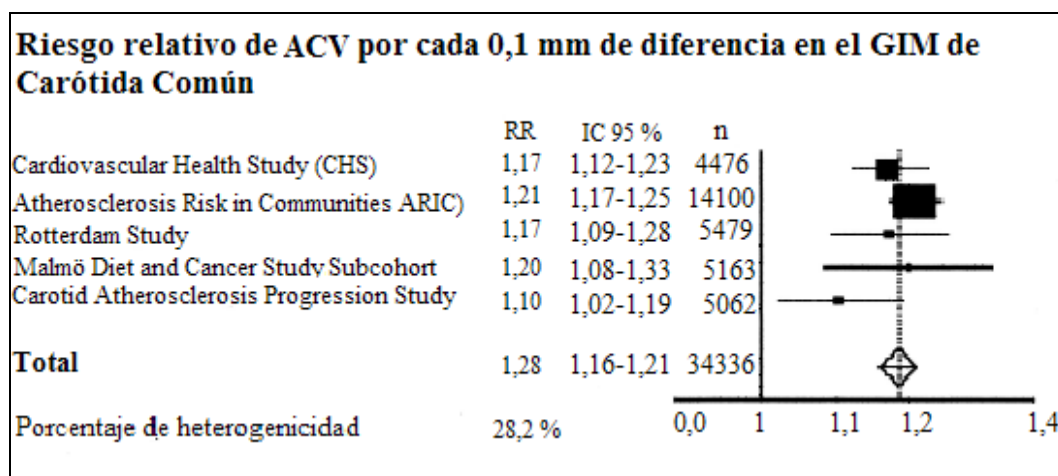
En otra cohorte de población sueca (Malmö Diet and Cancer Study) se observó una relación positiva entre GIMc de CC y la existencia de placas (definidas como el engrosamiento focal mayor de 1,2 mm) con la incidencia de ECV en 5163 sujetos de población sueca entre 45 y 65 años seguidos durante 7 años. Sin embargo, el GIMc no mostró relación con la incidencia de eventos coronarios fatales¹⁷¹.

1.9.1.2 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR

El primer estudio poblacional de seguimiento que evaluó la incidencia de eventos isquémicos cerebrales fue el estudio Rotterdam en el que se comparó el GIMc tanto de pared posterior como en pared anterior de CC en sujetos con y sin eventos cerebrovasculares tras más de dos años de seguimiento¹⁶⁷. Se observó mayor riesgo de sufrir un ictus con el aumento del GIMc (riesgo relativo de 1,81 con una diferencia de 0,172 mm entre varones afectados respecto a los no afectados y un riesgo relativo de 1,33 entre mujeres con y sin ictus con un

incremento en el GIMc de 0,155 mm). Tras ajustar los resultados obtenidos por edad y otros FRCV, el riesgo relativo se redujo a 1,34 (1,47 en varones y 1,13 en mujeres) pero siguieron encontrándose diferencias significativas entre uno y otro grupo. Cuando se analizaron los sujetos sin ECBV previa, la diferencia de en el riesgo relativo de nuevos eventos fue del 50%. En la misma población se observó una relación positiva entre el número de placas calcificadas de arteria aorta detectadas mediante radiografía simple, de arteria carótida detectadas mediante ecografía con el riesgo de desarrollar accidente cerebrovascular incluso tras ajustar los datos por edad, sexo y otros FRCV clásicos ^{167,172,173}.

Figura 1.20. Comparación del riesgo relativo de accidente cerebrovascular detectado en distintos estudios prospectivos de GIM en población general tras ajustar los resultados por edad y sexo.



Modificado de Lorenz et al. *Circulation* 2007;115:459-67.

En la cohorte del estudio ARIC se encontró mayor GIMc en aquellos sujetos que habían presentado clínica compatible con accidente isquémico transitorio (AIT) o accidente cerebrovascular respecto a aquellos sin manifestaciones clínicas relacionadas con esta entidad. La diferencia en el riesgo relativo de presentar ECBV aumentó a medida que lo hizo el GIMc. Tras 6 a 9 años de

seguimiento el riesgo relativo fue de 8,5 para mujeres y 3,6 para varones al comparar la incidencia en el grupo con GIMc mayor de 1 mm respecto a aquellos con GIMc menor de 0,6 mm. Dichas diferencias siguieron siendo elevadas en los grupos con mayor GIMc tras ajustar los resultados por los principales FRCV¹⁷⁴.

En otras poblaciones con menor prevalencia de ECBV como la japonesa se mantuvo la relación positiva entre el GIMc de CC y el riesgo de accidente cerebrovascular, siendo el riesgo relativo igual a tres al comparar la incidencia entre el grupo de sujetos en el tercer tercil de GIMc respecto del primero. Esta relación fue mayor al combinar las mediciones de CC y CI. Aquellos sujetos con placa en CI (caracterizada como un engrosamiento hiperecogénico en la pared vascular) presentaron un riesgo de sufrir un evento vascular cerebral tres veces mayor que aquellos sin calcificación¹⁷⁵. El estudio CHS (Cardiovascular Health Study), también demostró la asociación entre los valores de GIMc y la incidencia de ECBV. En este caso se observó una asociación más intensa al comparar los valores máximos de CC y el valor combinado de CC y CI¹⁷⁰.

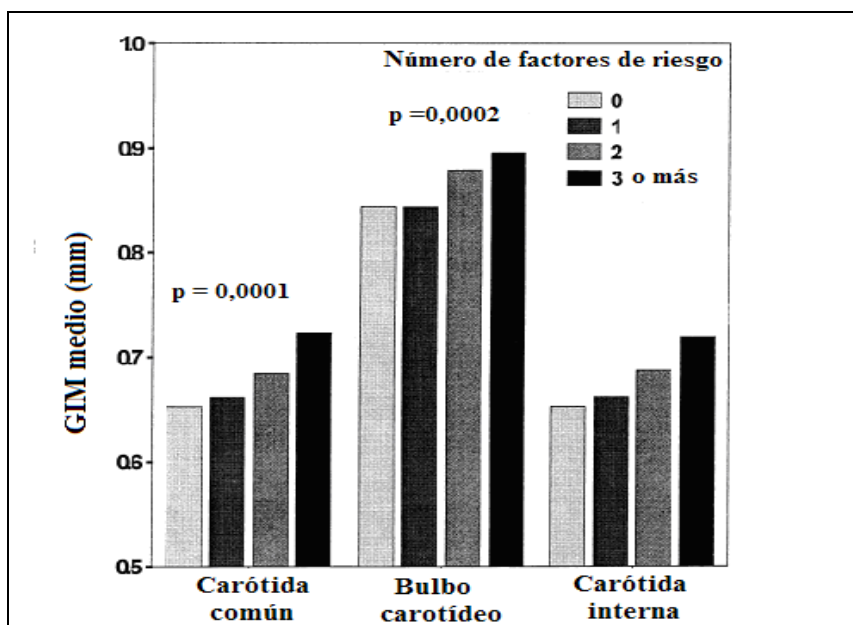
1.9.1.3 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y ENFERMEDAD VASCULAR PERIFÉRICA

El GIMc como técnica diagnóstica de aterosclerosis preclínica también ha demostrado su validez en detección de aquellos sujetos con EVP. En el Edinburgh Artery Study se evaluó por primera vez el GIMc como predictor de EVP observándose una relación positiva entre el valor del GIMc y la incidencia de EVP. En este estudio se estudió el GIMc de 1106 sujetos entre 60 y 80 años que posteriormente fueron seguidos durante una media de 5 años¹⁷⁶.

En el estudio ARIC, el GIMc medio fue mayor en sujetos con EVP establecida respecto a aquellos libres de enfermedad. A su vez, la prevalencia de enfermedad fue mayor medida que aumentaba el GIMc¹⁷⁷. En estudios de regresión se observó una relación inversa entre los valores de GIMc tomados como variable independiente y el ITB, observándose diferencias significativas en los valores de sujetos con EVP sintomática respecto a aquellos asintomáticos y entre aquellos con un índice tobillo-brazo mayor de 0,9 respecto a aquellos con un índice menor de 0,9. En el subgrupo de diabéticos, aquellos con un GIMc en el quintil superior, fumadores, con historia previa de CI y valores altos de TG demostraron mayor tendencia a desarrollar EVP¹⁷⁸.

1.9.2 FACTORES DETERMINANTES DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA DE ARTERIA CARÓTIDA

Figura 1.21. Influencia del número de FRCV en la evolución de aterosclerosis subclínica en sujetos jóvenes.



Berenson et al. Childhood risk factors predict adult risk associated with subclinical cardiovascular disease. The Bogalusa Heart Study. *Am J Cardiol* 2002;90:3-7.

La progresión de aterosclerosis cuantificada mediante la medición del GIM ha ayudado a determinar la influencia de los principales FRCV en la enfermedad aterosclerótica ya desde edades tempranas de la vida. En el Bogalusa Heart Study se demostró la influencia de los principales FRCV (PAS, IMC, cLDL, cHDL y edad) en la progresión del GIMc en sujetos entre 20 y 38 años sin manifestaciones clínicas previas de ECV. De los tres segmentos evaluados el BC mostró mayor engrosamiento de la pared arterial que CC y CI. Además los valores del GIMc fueron mayores a medida que aumentó el número de FRCV que coexistían en un mismo individuo (figura 1.21)³⁵

En los principales estudios poblacionales realizados hasta el momento se ha observado una correlación positiva entre los principales FRCV y los valores basales de GIMc. La edad, los valores de PAS y la concentración de cLDL son los factores determinantes del GIMc en la mayoría de los estudios, tanto en población sana sin FRCV conocidos, como en grupos de sujetos de FRCV y/o ECV^{168, 180, 181}.

1.9.2.1 HIPERTENSIÓN ARTERIAL

La presión arterial es uno de los factores que ha demostrado una asociación lineal positiva con el engrosamiento de la pared arterial en múltiples estudios, siendo una de las principales variables de ajuste del GIMc en todos ellos. No existe un valor umbral a partir del cual se observase un mayor efecto sobre el desarrollo de aterosclerosis^{166, 180, 181}. En el estudio ARIC también se detectaron diferencias en los valores medios de GIMc y presión arterial de aquellos sujetos con historia previa de ECV respecto a un grupo de sujetos asintomáticos pareados por edad y sexo¹⁸⁰. En el estudio Rotterdam se observó una diferencia media de 0,07 mm en el GIMc de aquellos sujetos con PAS elevada de forma aislada (PAS mayor o igual a 160 mmHg y presión arterial diastólica menor de

90 mmHg) sin tratamiento previo con hipotensores respecto a aquellos que presentaron valores normales¹⁸¹.

1.9.2.2 DIABETES MELLITUS

La asociación de DM con el desarrollo de ECV ha sido ampliamente demostrada en diferentes estudios epidemiológicos^{2,3}. En un estudio realizado recientemente se determinó el GIMc de CC y CI en 1625 individuos de ambos sexos y origen multiétnico diferenciados según diferentes grados de alteración en el metabolismo de la glucosa (metabolismo normal, alteración del metabolismo basal o DM). Los valores del GIMc fueron progresivamente mayores a partir del primer grupo. Dentro de los diabéticos se detectaron diferencias entre aquellos de nuevo diagnóstico respecto a aquellos con mayor tiempo de evolución, observándose mayor GIMc en los segundos. Tras ajustar los datos obtenidos por FRCV, sólo se detectó mayor GIMc en aquellos sujetos con DM de mayor tiempo de evolución¹⁸². Resultados similares se obtuvieron en el estudio ARIC. Dentro de las alteraciones del metabolismo hidrocarbonado, la presencia de DM se asoció a un mayor aumento del GIM (0,07 mm) respecto a aquellos que mostraban alteración de la glucemia basal en ayunas (0,03 mm)¹⁸³. En otro estudio en más de 200 diabéticos japoneses con un seguimiento medio de 3 años, los principales factores relacionados con la incidencia de ECV fueron los valores de GIMc aumentados al inicio del estudio y las bajas concentraciones de cHDL¹⁸⁴.

También, en 130 pacientes con glucemia basal alterada seguidos durante casi 4 años se observó una disminución del 50% en la progresión de GIM tras ser tratados con acarbosa respecto al grupo placebo¹⁸⁵. Similares resultados se observaron en un estudio de 3 años de seguimiento de un grupo más reducido de pacientes con DMT2 sometidos a tratamiento aislado con sulfonilureas y

metformina respecto a aquellos en tratamiento únicamente con sulfonilureas¹⁸⁶. En pacientes no diabéticos con EC estable el tratamiento con rosiglitazona durante 48 semanas demostró enlentecimiento en la progresión del GIM de CC respecto al grupo placebo. Estos efectos estarían en consonancia con el efecto antiinflamatorio adicional al aumento en la sensibilidad periférica a la insulina ejercido por estos fármacos¹⁸⁷.

1.9.2.3 TABAQUISMO

El tabaquismo es uno de los principales factores de progresión de aterosclerosis como han demostrado distintos estudios. En el estudio MARS (Monitored Atherosclerosis Regresión Study) se observó cómo los cambios en el estilo de vida (colesterol en la dieta y hábito tabáquico) fueron predictores de la progresión anual de GIM¹⁸⁸. El tabaco por sí solo ha demostrado aumentar el GIM de arteria carótida y femoral. En un estudio caso-control donde el tabaquismo fue el único factor de riesgo, el GIM de arteria carótida y femoral en sujetos anidados por edad y sexo fue significativamente mayor en fumadores respecto a los no fumadores. En este estudio también se demostró una relación positiva entre la exposición pasiva al humo de tabaco y el GIM¹⁸⁹. En otro estudio poblacional en el que se incluyeron 2073 sujetos, el GIMc de los no fumadores se situó en el cuartil inferior, los fumadores pasivos presentaron un GIM intermedio y el superior se detectó en los fumadores activos¹⁹⁰.

1.9.2.4 FACTORES GENÉTICOS

Recientemente se ha realizado un estudio en el que se valoró el grado de estenosis en miembros de familias de sujetos con estenosis de arteria carótida mayor del 50% y ECV en cualquiera de sus manifestaciones. Una vez ajustados los resultados por los FRCV, el GIMc se mostró como la variable más

relacionada entre padres e hijos con más del 50% de su valor atribuido a factores genéticos. Al cuantificar el número de placas se detectó una mayor relación con el número de factores de riesgo (HTA, DM, tabaquismo, cLDL, cHDL, Lp(a), factor Von Willebrand, factor VIII y factor XII). Según estos resultados, las fases iniciales de la aterosclerosis dependen más de factores genéticos mientras que en fases avanzadas influyen más otros factores de riesgo “añadidos” durante la vida del individuo¹⁹¹. En otro estudio realizado en población general, con menor prevalencia de aterosclerosis se detectó un discreto porcentaje de heredabilidad en los valores del GIM de CC y CI y en el número de placas detectadas en BC y CI¹⁹².

1.9.2.5 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y PROGRESIÓN DE ATEROSCLEROSIS

Hasta el momento existen pocos estudios poblacionales en los que se haya evaluado la progresión del GIMc. A diferencia de los ensayos clínicos aleatorizados, en este tipo de estudios es común realizar sólo dos mediciones, una al comienzo y otra al final del seguimiento, con años de diferencia entre una y otra, por lo que los resultados están sometidos a mayor variabilidad por errores de medición^{193, 194}.

En el primer estudio de estas características realizado por Salonen et al, tras un seguimiento medio de 2 años, las principales variables relacionadas con la progresión del GIMc fueron la edad, el cLDL y el consumo de tabaco mientras que la PAS y el cHDL no mostraron relación con la progresión del GIMc¹⁹⁴. En el estudio CAPS (Carotid Atherosclerosis Progression Study) se evaluó la progresión del GIMc y su relación con FRCV en más de 3000 sujetos. La mayor progresión se detectó en CI (0,032 mm/año) seguida de BC (0,023 mm/año) y CC (0,001 mm/año) sin embargo se observó mayor relación entre los principales

factores de riesgo y el GIM basal que con la progresión del GIMc. Además en BC y CI se forman placas con mucha mayor frecuencia por lo que se suponen mejores predictores de ECV que la determinación del GIMc en CC. Los principales factores de riesgo asociados con los valores de GIMc basal fueron edad, sexo masculino, tabaquismo e HTA. La existencia de DM se asoció con los valores de BC e CI pero no con los de CC. Los principales factores asociados con la progresión del GIM en CI fueron edad, sexo masculino, HTA, DM y tabaquismo¹⁹⁵. En otros estudios con seguimientos más prolongados los principales FRCV asociados con la progresión del GIMc fueron edad, IMC, sexo masculino, consumo de tabaco, PAS e HTA¹⁹⁶.

1.9.3 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA DE ARTERIA CARÓTIDA COMO MARCADOR SUBROGADO EN EL TRATAMIENTO MEDICO DE LA ATEROSCLEROSIS. PRINCIPALES ENSAYOS CLÍNICOS

La progresión de GIM como variable cuantitativa continua ha sido utilizada como objetivo primario en gran variedad de ensayos clínicos dirigidos a determinar la eficacia de diferentes tratamientos encaminados a disminuir la acción de los principales FRCV, principalmente la concentración sérica de cLDL. A pesar de la controversia creada por los diferentes resultados obtenidos en los últimos años, existen evidencias para afirmar la validez de este método diagnóstico como herramienta para evaluar la eficacia del tratamiento hipolipemiente¹⁹⁷

En uno de los primeros estudios en que se emplearon estatinas en prevención primaria, se demostró menor grado de progresión de GIMc en varones de edad media con valores de cLDL menores de 190 mg/dl tratados con 40 mg de pravastatina respecto a los sujetos en tratamiento con placebo. Este tratamiento se mantuvo durante tres años, produciendo una disminución en las

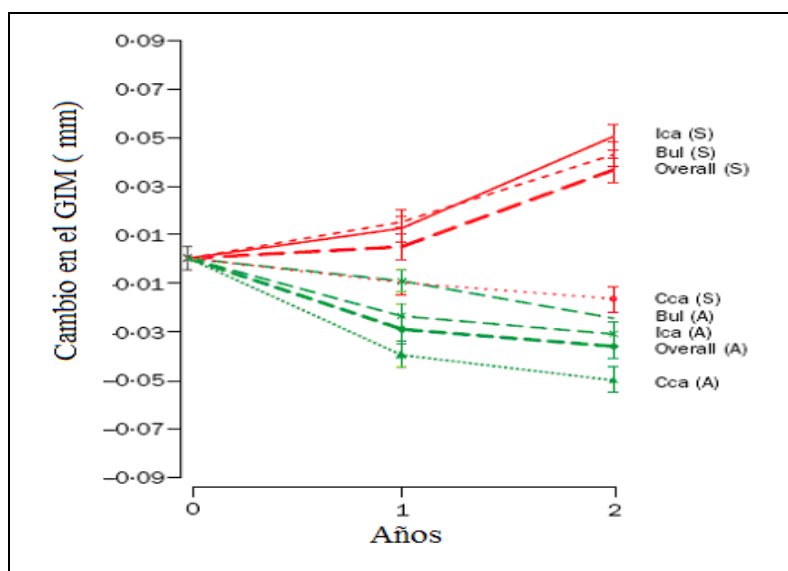
concentraciones de cLDL en torno a 50 mg/dl en todos los sujetos. El efecto fue mayor en aquellos sujetos con GIMc más elevado en la exploración basal, siendo más evidente a partir de GIM mayor de 1,6 mm¹⁹⁸.

La disminución en la concentración de cLDL hasta valores en torno a los 70-80 mg/dl se asocia a disminución en la progresión del GIMc. El estudio ASAP (figura 1.22) efectuado en sujetos heFH, con un alto riesgo cardiovascular, fue el primero que demostró una clara disminución en la progresión de aterosclerosis en el grupo de pacientes con tratamiento hipolipemiente intensivo (atorvastatina 80 mg) respecto al grupo de tratamiento convencional (simvastatina 40 mg), partiendo de un GIMc medio de 0,93 mm en ambos grupos. Aunque en ambos grupos de tratamiento se obtuvo una disminución significativa en la concentración del cLDL respecto a los valores basales, sólo aquellos sujetos incluidos en el grupo de tratamiento intensivo experimentaron una disminución en la progresión del GIMc (- 0,031 mm vs +0,036 mm). Estos valores se reflejaron en una disminución de la mortalidad cardiovascular en el grupo de tratamiento intensivo respecto al grupo con tratamiento convencional¹⁹⁹. Más recientemente el estudio SANDS²⁰⁰, realizado en sujetos diabéticos, ha confirmado los resultados anteriores al comparar el GIMc en aquellos sujetos en los que se alcanzó una concentración media de cLDL \leq 100mg/dl respecto a aquellos sometidos a tratamiento más agresivo en los que se descendieron los valores de cLDL hasta 70 mg/dl, con independencia del tratamiento utilizado para alcanzar dicho objetivo (estatina con o sin 10 mg de ezetimibe).

Estos datos están en aparente contradicción con los obtenidos en el estudio ENHANCE²⁰¹. Tras 24 meses de tratamiento y una diferencia media de 50 mg/dl en la concentración de CT no se observaron diferencias al comparar el GIMc de

sujetos tratados con simvastatina 80 mg respecto a otro grupo en el que además de simvastatina 80 mg se añadió ezetimibe 10 mg. En este caso, los valores basales de GIMc fueron mucho más bajos que los observados en otros ensayos de las mismas características (0,67mm). Además, en muchos casos fueron sujetos sometidos previamente a tratamiento hipolipemiante de larga duración. Con respecto a este dato sirve como referencia el estudio ARIC en el que los valores medios de GIMc de mujeres sin apenas FRCV ni ECV fueron de 0,70mm¹⁶⁶. En otros ensayos clínicos con moléculas diferentes a las estatinas o niacina se ha observado ausencia de regresión o progresión del GIMc. En grupos en tratamiento con torcetrapib²⁰², fenofibrato²⁰³ y pactimibe, un inhibidor de la acetil colesterol acetil trasnferasa²⁰⁴ además, se observó un aumento significativo en la incidencia de ECV en los grupos en tratamiento con estos fármacos con respecto a los grupos control.

Figura 1.22. Variaciones en el GIM de sujetos HF tras tratamiento con simvastatina (S) o atorvastatina (A) a lo largo de dos años.



Modificado de Smilde et al. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP). *Lancet* 2001;357:577-81.

Los mismos resultados se han obtenido en ensayos clínicos que incluyeron sujetos con riesgo cardiovascular moderado ($\leq 10\%$ según Framingham). En el estudio METEOR²⁰⁵ tras dos años de seguimiento, se obtuvo una concentración media de cLDL de 78 mg/dl y la disminución en la progresión del GIMc fue de 0,0014 en el grupo en tratamiento con rosuvastatina 40 mg mientras que el GIMc progresó 0,0131 mm en el grupo placebo.

Otro grupo de fármacos que ha demostrado su eficacia en la regresión del GIM ha sido el ácido nicotínico. En el estudio ARBITER se observó la regresión del GIMc en el grupo en tratamiento con niacina tras obtener un aumento medio de 19% mg/dl en la concentración de cHDL. Este efecto fue mayor tras prolongarse al tratamiento durante 24 meses respecto a aquellos que lo habían mantenido sólo 12 meses y se atribuyó principalmente al aumento en las concentraciones de cHDL observadas²⁰⁶. Por el contrario, en un subestudio del estudio FIELD en el que se valoró la variación del GIM tras tratamiento con fibratos no mejoró el GIMc a pesar de conseguirse disminuciones significativas en la concentración de cLDL y TG y de haber incluido en el estudio sujetos naïve en el tratamiento con estatinas²⁰³. En sujetos con CI se observó una correlación positiva entre el grado de estenosis cuantificado mediante coronariografía y el GIMc. Además también se observó una asociación positiva entre la disminución del GIMc y el porcentaje de estenosis de las lesiones coronariográficas leves y moderadas tras tratamiento con colestipol y niacina²⁰⁷.

También se ha estudiado el efecto del tratamiento de otros FRCV en la evolución del GIM. Se ha demostrado una mayor eficacia del tratamiento concomitante de estatinas y metoprolol 100 mg/día respecto al tratamiento aislado con estatinas en la progresión del GIM. Según estos resultados, cada fármaco ejercería un efecto complementario en la prevención de la progresión

de la aterosclerosis²⁰⁸. También se ha observado el efecto beneficioso de los bloqueadores de los canales de calcio en la progresión del GIMc respecto a otros fármacos antihipertensivos aun sin detectarse diferencias significativas en las cifras de presión arterial²⁰⁹.

1.10 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA Y DISLIPEMIAS PRIMARIAS

1.10.1 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA E HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

Los sujetos heHF han sido utilizados como modelo de población determinada genéticamente con mayor carga de aterosclerosis por las altas concentraciones de CT y cLDL observadas desde el inicio de la vida y por la importante prevalencia de ECV en este grupo de pacientes. En los poblacionales en los que se incluyeron sujetos con heHF, los valores del GIMc fueron mayores que en sujetos normolipémicos o hiperlipémicos sin heHF^{210, 211}. De Groot et al estudiaron un total de 315 pacientes heHF holandeses, desde la infancia hasta los 76 años de edad comparándos con 118 sujetos normolipémicos. El GIMc fue mayor en sujetos heHF respecto al grupo control ($0,079 \pm 0,20$ vs $0,63 \pm 0,14$ mm) siendo los valores de los sujetos heHF equivalentes a los del grupo control 10 años mayor. No hubo diferencias entre los grupos al comparar el GIMc en niños de 10 años de edad ($0,53$ mm). A partir de esa edad la progresión del GIMc fue diferente entre los grupos observándose un aumento de $0,009$ mm por año en el grupo heHF respecto a $0,004$ mm en el grupo control. La progresión del engrosamiento de la pared arterial fue mayor en sujetos heHF con GIMc de $0,8$ mm lo cual sugiere mucha mayor probabilidad de complicación de las lesiones ateroscleróticas a partir de este momento¹⁵¹.

Otras variables que han demostrado estar asociadas de forma independientemente con el GIMc en sujetos heHF fueron las concentraciones de lipoproteínas. La concentración de cLDL mostró una relación directa con el GIMc²¹² mientras que los valores de cHDL se relacionaron de forma inversa con los valores de GIMc, con independencia de la concentración de cLDL²¹³. Dentro de los sujetos heHF se ha observado mayor GIMc en aquellos con historia familiar de ECV²¹⁴ y con antecedentes personales de ECV²¹². Una de las limitaciones de estos estudios para evaluar la eficacia del tratamiento hipolipemiente en la progresión de aterosclerosis es la alta proporción de pacientes heHF sometidos a tratamiento hipolipemiente intensivo desde edades tempranas aunque en la mayoría de los casos la dosis de fármaco administrada resultaba insuficiente para lograr la no progresión o regresión de la lesión aterosclerótica²¹².

1.10.2 GROSOR ÍNTIMA-MEDIA E HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

En los últimos años han aparecido nuevas publicaciones evaluando el GIMc en sujetos con HFC. En este caso también se trata de un grupo de población con mayor prevalencia de ECV que la población general. En todas ellas excepto en el estudio de Ylitalo et al.²¹⁴, los valores del GIMc fueron superiores en los sujetos con HFC respecto a los obtenidos en población control, con unas diferencias aproximadas entre 0.033 y 0.080 mm entre ambos grupos²¹⁵⁻²¹⁸. Al igual que en población control o con heHF, en todas las muestras representadas en estos estudios la variable más determinante del GIMc en HFC fue la edad. El sexo se incluyó como variable predictiva independiente sólo en algunos de los estudios realizados, siendo mayor el GIMc en varones que en mujeres²¹⁶. En cuanto al resto de variables, tanto el perfil lipídico como otros

FRCV, principalmente aquellos en relación con el SM, demostraron estar asociados con los valores de GIMc. Una vez ajustados los valores por edad y sexo, los principales factores predictivos del GIMc en los distintos grupos de pacientes con HFC estudiados fueron PAS, IMC²¹⁶ glucemia en ayunas, historia familiar de ECV, la relación colesterol no HDL/TG²¹⁸, LDLpd²¹⁹ y la relación apo B/apo A²¹⁷. El modelo resultante en el análisis multivariante predijo entre el 43% y el 50% del GIMc por lo que existe un porcentaje considerable de aterosclerosis desarrollada por estos sujetos no dependiente de los principales FRCV evaluados de forma rutinaria en la práctica clínica²¹⁶⁻²¹⁹. Estos valores son similares a los obtenidos en sujetos con otras dislipemias familiares como la heHF mientras que en sujetos control las variables asociadas a ECV predijeron hasta el 90% del valor total del engrosamiento arterial²²⁰. En muchos de estos casos la evolución de la lesión aterosclerótica es menor y tal vez por ello la influencia de los distintos factores de riesgo evaluados es diferente.

Los estudios con nuevos fármacos realizados en este grupo específico es más escaso que en el caso de la HF. En un subgrupo del estudio RADIANCE 2 se comprobó el efecto del torcetrapib en sujetos con dislipemia mixta. Tras 22 meses de seguimiento no se observaron cambios significativos en los valores máximos del GIMc en 752 pacientes tratados con la combinación de atorvastatina y torcetrapib a pesar de obtener un aumento adicional de un 63 % en las concentraciones de cHDL. Este grupo también se acompañó de un aumento en la PAS de 5,1 mmHg y una disminución en las concentraciones de cLDL del 17% ²²¹

2 HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2.1 HIPÓTESIS

El GIMc es una herramienta que permite la cuantificación de la aterosclerosis en fases muy iniciales de la enfermedad. Además de correlacionarse positivamente con la aterosclerosis en otras localizaciones del árbol vascular y con los FRCV clásicos, también es un marcador independiente de riesgo cardiovascular. Se ha demostrado cómo el tratamiento médico de los FRCV, principalmente la disminución en las concentraciones de cLDL obtenido con los inhibidores de la hidroximetilglutaril coenzima a reductasa (conocidos comúnmente como estatinas), es un tratamiento eficaz para disminuir la incidencia de eventos cardiovasculares, tanto en prevención primaria como secundaria de la enfermedad. Este efecto ha sido posible objetivarlo mediante la medición de la progresión del GIMc en ensayos clínicos aleatorizados. En ellos se incluyeron cohortes de sujetos en tratamiento con estatinas comparándolos con grupos en tratamiento con placebo.

Se desconoce la distribución del GIMc en población española sin FRCV ni ECV conocidos. La distribución del GIMc en este grupo de población puede servir como referencia para conocer los valores a partir de los cuales se puede considerar que existe exceso en el desarrollo de aterosclerosis. Para determinar qué valores deben ser considerados como anormales en nuestro medio previamente debe describirse la distribución del GIM en población general sin FRCV ni ECV.

Existen enfermedades de carácter genético asociadas a una mayor incidencia y precocidad de ECV respecto a población general. Las más

prevalentes y con mayor riesgo son la heHF y la HFC, ambas asociadas a un aumento en la concentración de CT y al aumento de TG en el caso de HFC. Si bien la incidencia de ECV es muy precoz en sujetos con heHF, la mayor prevalencia de HFC y la frecuente asociación con otros FRCV hacen que el riesgo cardiovascular asociado con esta enfermedad sea también elevado.

El estudio de aterosclerosis subclínica mediante el GIMc puede ser una herramienta eficaz para comparar el grado de aterosclerosis de cada población. La detección de aquellos sujetos con mayor riesgo de ECV por presentar mayor GIMc puede ser importante para instaurar un tratamiento farmacológico más agresivo, principalmente disminuyendo la concentración de cLDL, que pueda disminuir el riesgo CV de estos individuos.

En sujetos con heHF existe además mayor riesgo cardiovascular en aquellos sujetos en los que se detecta XT mediante exploración física respecto a aquellos que no lo presentan si bien esta es una medida subjetiva de un signo clínico con gran variabilidad entre los sujetos. Además, se desconoce la posible relación existente entre el engrosamiento del TA medido mediante ecografía y el GIMc como marcador subrogado de riesgo cardiovascular.

2.2 OBJETIVOS

A partir de todo lo expuesto previamente los objetivos de nuestro estudio son los siguientes:

- 1) Describir los valores del GIMc en población de nuestro entorno sin FRCV conocidos, ni historia de ECV, según intervalos de edad y sexo. Los valores obtenidos podrán servir de referencia para evaluar el riesgo cardiovascular individual de cada sujeto de acuerdo a su GIMc. Esta cohorte puede ayudar a determinar qué factores influyen en la progresión de la aterosclerosis en población española.
- 2) Valorar la posible relación entre el engrosamiento del TA medido mediante ecografía y el GIMc en sujetos con diagnóstico de heHF de manera que la exploración ecográfica del TA sea una herramienta más fiable para valorar el riesgo cardiovascular de estos sujetos. Secundariamente evaluar la relación entre el tamaño del TA y la actividad inflamatoria mediada por los macrófagos.
- 3) Comparar los valores de GIMc entre sujetos con diagnóstico de heHF e HFC como método indirecto de comparación del riesgo cardiovascular entre una y otra entidad, así como los principales factores de terminantes del engrosamiento de la pared arterial en cada grupo.

3 MATERIAL Y MÉTODOS

3.1 SUJETOS INCLUIDOS EN EL ESTUDIO

En nuestro trabajo se han incluido los sujetos atendidos en la Unidad de Lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet de septiembre de 2005 a agosto de 2008. La mayoría de estos pacientes fueron remitidos a nuestra consulta por parte de su médico de atención primaria. Un menor porcentaje fueron remitidos por especialistas en endocrinología. En otros casos se trata de familiares de sujetos con dislipemia y/o ECV que consultan en nuestra unidad para detectar que sean portadores de dislipemia de origen familiar.

Los principales motivos por los que dichos pacientes son revisados en nuestra unidad son los siguientes: descartar causa familiar de hipercolesterolemia en especial en aquellos sujetos en los que se sospecha hipercolesterolemia familiar secundaria a mutación en el gen del LDLR; control bioquímico de pacientes que persisten con concentraciones elevadas de colesterol en sangre a pesar de haberse instaurado tratamiento hipolipemiante; pacientes con historia familiar y/o personal de ECV precoz; estudio de otras formas familiares de hipercolesterolemia o dislipemia mixta y pacientes con cifras elevadas de CPK y/o mialgias en el contexto de tratamiento con estatinas.

Los sujetos pertenecientes al grupo control fueron voluntarios sanos pertenecientes al medio hospitalario, después de campañas de propaganda (Universidad de la experiencia) o de forma personal a través de los investigadores.

3.2 EXAMEN CLÍNICO

Todos los sujetos accedieron a someterse a un interrogatorio clínico relacionado con el tema a estudio. Además, firmaron un consentimiento informado por el que permitían a los investigadores realizar las exploraciones clínicas incluidas en el estudio y una extracción de sangre para obtener los datos bioquímicos utilizados. Dicho consentimiento informado fue aprobado por el Comité de Ética de Investigación Clínica de Aragón (CEICA).

Durante la primera visita se realizó una historia clínica donde se recogieron sus antecedentes familiares y personales de ECV (haciendo especial hincapié en la edad y modo de presentación), HTA, DM, hipercolesterolemia e HTG, así como el tiempo de evolución desde el diagnóstico hasta el momento de la entrevista. También se recogieron los hábitos dietéticos de cada paciente, el consumo medio de alcohol y el ejercicio físico realizado habitualmente por el sujeto. En cuanto al hábito tabáquico se recogió el número de cigarrillos consumidos al día en el momento de la entrevista y la evolución de dicho consumo a lo largo de la vida del sujeto (media del número de cigarrillos fumados diariamente y número de años fumando). En la anamnesis se descartaron posibles causas secundarias de hipercolesterolemia y/o hipertrigliceridemia como hipotiroidismo, síndrome nefrótico, síndrome de Cushing o el consumo de ciertos fármacos como betabloqueantes, diuréticos tiazídicos, estrógenos, andrógenos, glucocorticoides, sertralina, ácido valproico, isotretinina o inhibidores de la proteasa que pueden causar alteraciones en el perfil lipídico y en ocasiones, aumento de la presión arterial.

En la exploración física se recogieron datos antropométricos (talla, peso, perímetro abdominal medido 5 centímetros por encima de la espina isquiática

con un metro estandarizado) y la existencia de signos clínicos sugestivos de dislipemia familiar: arco corneal, engrosamientos en tendones extensores de manos y tobillos sugestivos de XT, depósitos en forma de manchas amarillentas en palmas de las manos denominados xantomas palmares, (patognomónicos de disbetalipoproteinemia), xantomas eruptivos que se describen como erupciones granulomatosas en zona de extensión de tronco y extremidades y acumulación de material amarillento en párpados denominados xantomas palpebrales.

En todos ellos se obtuvo la presión arterial medida tras 15 minutos de reposo con un manguito automático estandarizado. Se realizó auscultación cardiopulmonar para descartar signos que hicieran sospechar patología del sistema cardiorrespiratorio, así como palpación abdominal para descartar hepatomegalia. Se exploraron las extremidades inferiores para detectar la posible existencia de edemas como signo de fallo en la función cardíaca y de pulsos en arterias tibial anterior y pedia cuya ausencia podría ser sugestiva de enfermedad vascular obstructiva en dicha localización.

3.3 PERFIL BIOQUÍMICO

Junto a la evaluación clínica, para completar el estudio de cada paciente se obtuvo una muestra de sangre venosa tras haber permanecido en ayunas al menos las 12 horas previas. En aquellos pacientes en los que se había instaurado tratamiento médico antes de acudir a nuestra consulta y no presentaban historia personal de ECV esta extracción se realizó tras suspender el tratamiento con fármacos hipolipemiantes al menos las cuatro semanas previas. Con la muestra de sangre obtenida se determinó la concentración en sangre de CT, TG, cLDL (calculado mediante la fórmula de Friedewald si TG menores de 400) y cHDL,

según las recomendaciones para el estudio de pacientes con sospecha de dislipemia del Nacional Cholesterol Educational Program (NCEP- ATP III). Además se determinó la concentración en sangre de Lp(a), glucosa, hemoglobina A1c, hormona tiroestimulante (TSH), triyodotirosina (T3), creatinina, aspartato aminotransferasa (AST), alanino aminotransferasa (ALT), gamma glutaril transpeptidasa (GGT) y PCR. En aquellos con ECV establecida se trataron de obtener los valores de CT, TG, cLDL y cHDL previos al comienzo de la enfermedad y/o del tratamiento.

Las concentraciones de CT y TG fueron determinados mediante métodos enzimáticos estandarizados. Los valores de cLDL fueron calculados según la fórmula de Friedewald, en aquellos sujetos con TG menores de 400 mg/dl. Los valores de colesterol no HDL fueron calculados restando el valor de cHDL al CT. ApoB y Lp(a) fueron determinados usando inmunoturbidimetría (Unimate 3, Roche, Basel, Switzerland). La concentración de PCR fue determinada mediante nefelometría usando el método inmunoquímico IMAGE® (Beckman Coulter). En aquellos sujetos con sospecha de heHF e HFC se determinó el genotipo de apoE según el método de Wenham et al²²².

La concentración de subtipos de lipoproteínas y el tamaño medio de cada tipo de lipoproteínas fue medido mediante espectroscopía de resonancia magnética nuclear (LipoScience, Inc., Raleigh, North Carolina). La concentración de cada subtipo de lipoproteínas según el tamaño se obtuvo directamente mediante la cuantificación de la amplitud de la señal electromagnética obtenida según la cantidad de grupo metilo en cada molécula. El peso medio de cada lipopartícula se deriva de la suma del diámetro multiplicado por el porcentaje relativo de su masa, basado en la amplitud de la señal del grupo metilo. Se evaluó la concentración de las siguientes subclases

(en nanomoles de partículas/litro o nmol/L): LDL pequeñas (diámetro of 18.0–21.2 nm), LDL grandes (21.2–23.0 nm), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) (23.0–27.0 nm), HDL grandes (8.8–13.0 nm), HDL medianas (8.2–8.8 nm), HDL pequeñas (7.3–8.2 nm), VLDL grandes (>60 nm), VLDL medianas (35.0–60.0 nm), y VLDL pequeñas (27.0–35.0 nm). Dentro del subtipo de LDL pequeñas se incluyen las partículas intermedias-pequeñas (19.8–21.2 nm) y las muy pequeñas (18.0–19.8 nm), que muestran una correlación muy similar con la concentración de cLDL y CT por lo que pueden considerarse un único grupo²²³.

El perfil bioquímico permitió clasificar a cada paciente en uno de los principales fenotipos lipídicos, descritos por Frederickson. Esta clasificación junto a la información obtenida en la anamnesis permitió realizar una primera aproximación diagnóstica de cada sujeto y descartar otras patologías que secundariamente pudieran causar dislipemia.

Hiperlipoproteinemia tipo I. Se caracteriza por el aumento de Qm mientras que el número de partículas VLDL permanece normal. Se asocia a elevaciones importantes en las concentraciones de TG en sangre (mayores de 1000 mg/dl) con colesterol normal o ligeramente elevado.

Hiperlipoproteinemia tipo IIa. Se atribuye al aumento de partículas de LDL en sangre mientras que la concentración del resto de lipoproteínas permanece normal. Se caracteriza por un aumento importante en las concentraciones de CT a expensas de cLDL (ambos, por encima del percentil 90 según los valores de DRECE)²²⁴.

Hiperlipoproteinemia IIb. Se produce cuando aumenta el número de partículas LDL y VLDL. Se asocian a altas concentraciones de CT y TG (CT por

encima del percentil 90 de la población para edad y sexo, junto a TG por encima de percentil 90 según edad y sexo ó 200 mg/dl).

Hiperlipemia tipo III. Se produce por el aumento en la concentración de partículas residuales IDL. Se asocia a cifras de CT y TG ligeramente más elevadas que en el caso anterior. En general, en el mismo paciente concurre alguna circunstancia clínica desencadenante del proceso. Si utilizamos como referencia únicamente la concentración de lípidos en sangre es difícil distinguirla del tipo anterior.

Hiperlipemia tipo IV. En este caso se produce un aumento aislado en las concentraciones de VLDL en sangre mientras que el resto de lipoproteínas permanecen en un rango normal. Se asocian al aumento de la concentración de TG en sangre moderados (entre 200 y 1000 mg/dl) mientras las concentraciones de CT son normales.

Hiperlipemia tipo V. En este caso se produce la elevación de VLDL y Qm. Se asocia a concentraciones de TG y CT muy elevados (en general, TG por encima de 1000mg/dl y CT por encima de 300 mg/dl).

En la práctica resulta difícil determinar el límite a partir del cual consideramos que existe un aumento o disminución excesiva en la concentración del colesterol o de las lipoproteínas transportadoras del mismo o de TG. Por ello se han establecido como límites superiores para cada parámetro aquellas concentraciones que superen los valores situados en el percentil 90 de la población general a la que pertenece el sujeto y como límites inferiores aquellos valores por debajo del percentil 10 de esa misma población.

3.4 CRITERIOS DE CLASIFICACIÓN Y DIAGNÓSTICO DE LAS PRINCIPALES DISLIPEMIAS EVALUADAS

Una vez asignado un tipo de hiperlipemia, cada sujeto según una entidad nosológica. A continuación exponen los criterios utilizados:

Hipercolesterolemia familiar (HF +). Este es el único trastorno de los estudiados en nuestra población para el que existe un método diagnóstico inequívoco: la detección de una mutación en LDLR o APOB. Este análisis se aplica en muestras de DNA de individuos con una alta probabilidad previa de presentar este trastorno. Serán aquellos que presenten las siguientes características: fenotipo IIa en el propio sujeto, historia familiar de dislipemia IIa/ IIb (que con frecuencia se detectan en los primeros años de vida del sujeto) y/o ECV precoz (la que acontece en varones menores de 55 años o en mujeres menores de 65 años).

Un número no despreciable de familias de sujetos con fenotipo IIa que cumplen estas características no presentan ninguna mutación en LDLR. En nuestra clasificación reciben el nombre de HF (-). Este grupo resulta interesante para estudiar otras causas de hipercolesterolemia de carácter hereditario.

Hiperlipemia familiar combinada: Corresponde a sujetos con historia personal de dislipemia IIb y al menos un familiar de primer grado afecto por hiperlipemia IIa, IIb o IV en ausencia de causas secundarias ni de mutación en LDLR. En estos sujetos es frecuente que exista una amplia historia familiar de ECV si bien no siempre se manifiesta en edades tempranas de la vida. El perfil fenotípico es variable a lo largo de la vida de un mismo individuo y en

miembros de una misma familia, además de ser más influenciable por factores externos.

Disbetalipoproteinemia. Este grupo de sujetos incluye a aquellos con fenotipo tipo III. Corresponderá a aquellos con aumento de CT y TG y genotipo de apo E E2/E2. Existen otras isoformas asociadas a alteraciones en el catabolismo de las lipoproteínas remanentes, como por ejemplo las mutaciones detectadas en las posiciones 127 y 136 del gen que regula la unión al receptor. Con frecuencia se trata de sujetos portadores de este genotipo en los que la coexistencia de factores genéticos no bien conocidos u otras alteraciones del metabolismo (obesidad, hipotiroidismo, DM) desencadena las alteraciones descritas en el perfil lipídico.

Hipercolesterolemia poligénica. Sujetos con colesterol por encima del percentil 90 según la distribución en población general, en los que no existe una clara historia familiar de dislipemia y en los que se han descartado causas secundarias de la misma. No pertenecen a este grupo aquellos sujetos que presenten hipercolesterolemia por aumento en la concentración de HDLc.

Hipertrigliceridemia familiar. Sujetos con hiperlipemia tipo IV o V e historia familiar de hipertrigliceridemia. En este grupo se cuidó especialmente el mantener un tiempo de ayuno prolongado ya que las ingesta importantes de grasa o alcohol en las horas previas pueden ser causa de hipertrigliceridemia esporádica.

Hiperalfalipoproteinemia. Son sujetos en los que se detecta aumento de CT a expensas del aumento en el número de moléculas de HDL con valores de cLDL por debajo del percentil 90 según la distribución en población general.

Las concentraciones de HDLc y apo A se elevan por encima del percentil 90 según edad y sexo en la población española.

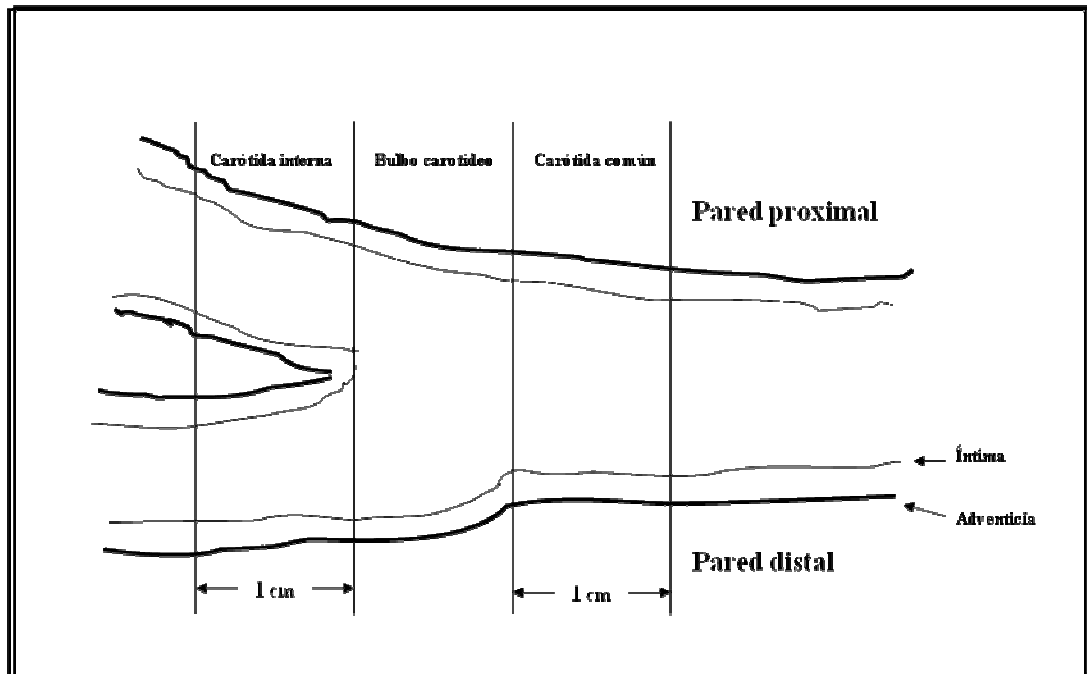
Hipoalfalipoproteinemia. Corresponde a sujetos con cifras de CT dentro del rango de la normalidad en los que únicamente se aprecia una disminución en las concentraciones de HDLc por debajo del percentil 10 según edad y sexo definidos en el estudio DRECE.

3.5 ESTUDIO ULTRASONOGRÁFICO DE ARTERIA CARÓTIDA

Durante la primera visita se realizó una ecografía de arteria carótida en modo B a cada uno de los participantes en nuestro estudio. Dicha exploración fue realizada por ecografistas experimentados en esta técnica utilizando un equipo de la marca Aspen Sequoia de multifrecuencia (7-10Mhz) usando un transductor lineal.

Se obtuvieron imágenes de la pared posterior de CC, BC y CI de ambas arterias carótidas de cada individuo mediante un protocolo común (figuras 3.1-3.3). En nuestro estudio utilizamos un centímetro a partir del límite entre CC y BC estableciéndose como tal el punto en que la arteria aumenta su calibre para dar lugar al BC. El bulbo de la carótida (BC) se limita por el final de la CC y por el comienzo de las dos principales ramificaciones de la arteria; carótida externa y CI (figura 3.1).

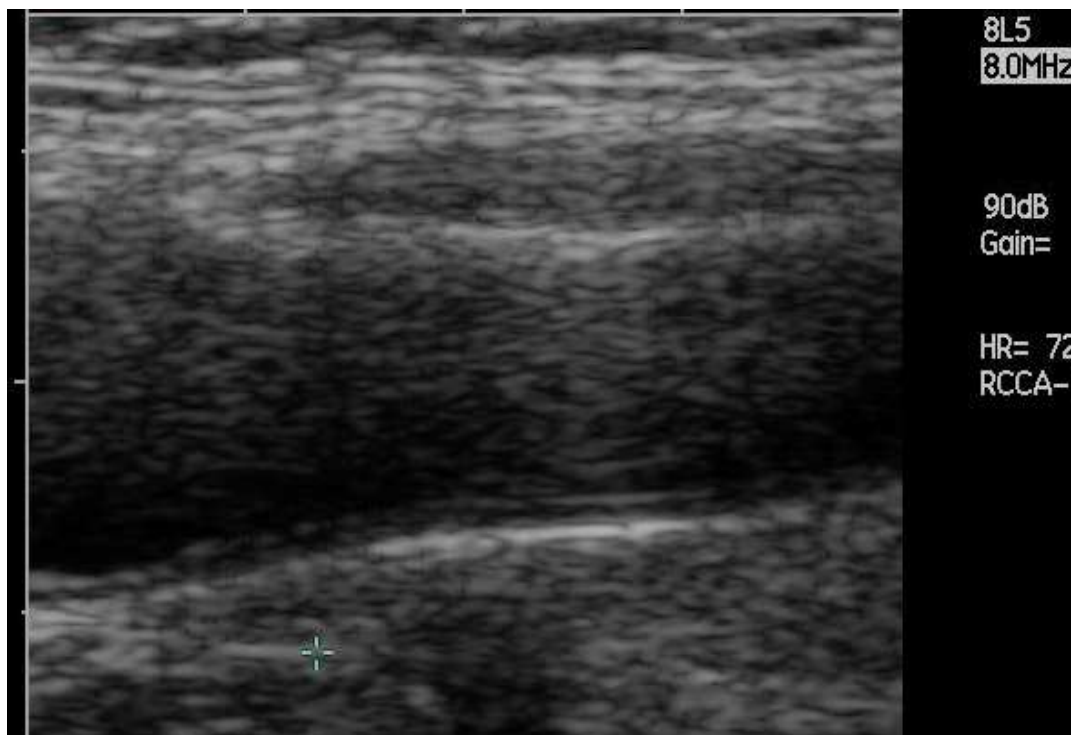
Figura 3.1 Esquema de los segmentos estudiados en la ecografía de arteria carótida



Con frecuencia es posible visualizar la zona en que comienza esta división, denominada bifurcación o punto de división del flujo (*“flow divider”*). Cuando no es posible detectar una marca anatómica clara es de gran ayuda el estudio mediante doppler del flujo de ambas ramas de la arteria. La CI presentará en general menor diferencia de presión en el flujo (figura 3.2).

La arteria carótida interna (CI) comienza en el *flow divider* o en su ausencia en la zona donde la arteria recupera un diámetro menor y uniforme. Se valoró como máximo el GIM de un centímetro medido a partir de ese punto si bien en ocasiones es difícil obtener esa longitud por las características del paciente (figura 3.3).

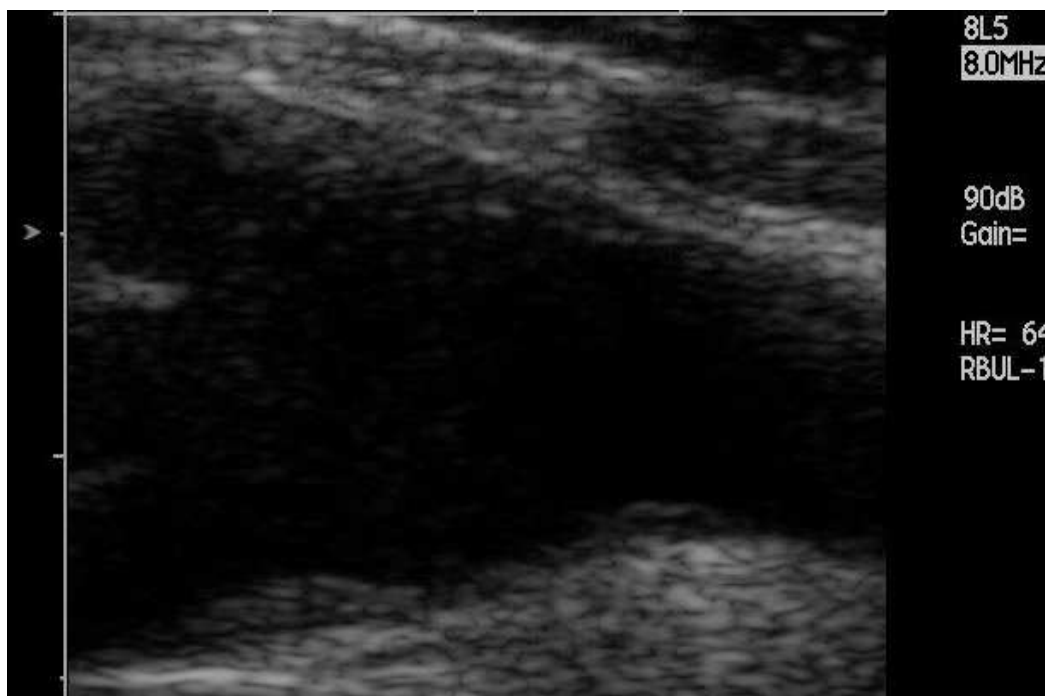
Figura 3.2. Imagen del segmento final de CC y comienzo de BC recogida mediante ecografía en modo B



Una vez obtenidas las imágenes, la medición del GIM de cada segmento arterial fue realizada por un único técnico validado para ello por el laboratorio de imagen del Amsterdam Medical Center que utilizó un software MADLAB adaptado para la obtención del grosor de la pared arterial. Así se obtuvieron los valores máximo y medio del GIM de cada segmento.

Aquellos pacientes con sospecha de hiperlipemia tipo IIa en la primera visita, fueron sometidos además al examen ecográfico del tendón de Aquiles. Para ello los sujetos se situaron de rodillas encima de la camilla, delante del examinador, manteniendo apoyada la parte anterior de la pierna, mientras la parte posterior y el pie quedaban suspendidos en el aire formando un ángulo de 90°. Durante la exploración se puso especial atención en obtener las imágenes paralelamente a la dirección de las fibras del tendón.

Figura 3.3. Segmento de BC completo. A la derecha parte final de CCA la izquierda, comienzo de CI



El grosor del tendón, se obtuvo a partir de la sección sagital del mismo, dos centímetros por encima del os calci. Una vez obtenida la imagen se utilizaron los valores medio y máximos obtenidos a lo largo de un centímetro de extensión a partir de la distancia entre las dos líneas de mayor densidad que delimitan el tejido fibrilar del que se compone (figuras 1.13 y 1.14).

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos obtenidos de las variables enumeradas previamente se han estudiado estadísticamente mediante el software Statical Package for the Social Sciencens (SPSS Inc, versión 15.0). Los valores del GIMc utilizados en cada uno de los modelos predictivos fueron el valor máximo de los seis segmentos evaluados (CC, BC y CI de pared posterior de arteria carótida derecha e izquierda), el valor medio de los valores máximos y medios de cada segmento.

Se describieron las variables de tendencia central (media \pm desviación estandar en caso de seguir una distribución normal o mediana y rango intercuartil para aquellos con distribución no normal) para cada una de las variables estudiadas. La distribución normal de las variables se comprobó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov. La comparación entre variables cuantitativas continuas con una distribución normal se realizó mediante el test t de student mientras que se empleó el test U de Mann-Whitney cuando al menos una de ellas no seguía una distribución normal. En caso de comparar más de dos grupos de datos se utilizó el test de ANOVA cuando todas las variables comparadas seguían una distribución normal y el test H de Kruskal-Wallis cuando se compararon más de dos grupos en los que alguno de ellos seguía una distribución no normal. La comparación entre variables cualitativas se realizó mediante el test de ji-cuadrado.

Para determinar la correlación entre variables con distribución normal se empleó la ρ de Pearson, mientras que cuando alguna de las variables no seguía una distribución normal se utilizó la ρ de Spearman. Para ajustar los valores del GIMc por edad y sexo y obtener las gráficas de distribución según sexo, grupo de edad y dislipemia se utilizó el modelo lineal general univariante calculado para cada una de las variables dependientes utilizadas en el modelo (valor máximo de todos los segmentos, valor medio de los valores máximos de los seis segmentos y valores medios de las medias de los seis segmentos).

El valor predictivo de cada una de las variables incluídas en el modelo final con respecto a los valores del GIMc se realizó mediante el test de regresión lineal múltiple. En el caso del GIMc de sujetos con HF e HFC los valores de GIMc fueron transformados en su logaritmo en base 10 para adquirir una distribución normal.

4 RESULTADOS

4.1 DISTRIBUCIÓN DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA DE ARTERIA CARÓTIDA EN SUJETOS SANOS SIN FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

4.1.1 Obtención de la muestra y características clínicas

Para realiza este estudio se seleccionaron inicialmente 218 sujetos reclutados a dentro del grupo de trabajadores del Hospital Universitario “Miguel Servet”, alumnos de la Facultad de Medicina y de la “Universidad de la Experiencia” curso de formación multidisciplinar dirigido a personas mayores de 60 años, ambos de la Universidad de Zaragoza. Del grupo inicial, 135 (61 varones y 74 mujeres entre 18 y 79 años) fueron utilizados en el análisis final, una vez aplicados los criterios de exclusión ($\text{IMC} \geq 30 \text{ Kg/m}^2$, ser hipertenso o detectarse en la exploración física una presión arterial $\geq 169/90$, $\text{cLDL} \geq 160 \text{ mg/dl}$, $\text{cHDL} \leq 30 \text{ mg/dl}$, glucemia basal $\geq 125 \text{ mg/dl}$, creatinina $\geq 2 \text{ mg/dl}$ o $\text{TSH} > 6 \text{ mcU/ml}$). En los 83 sujetos no incluidos (46 varones y 37 mujeres) las principales causas de exclusión fueron: en 41 de ellos la concentración basal de cLDL fue $>160 \text{ mg/dl}$, en 25 sujetos el consumo medio de cigarrillos fue >15 paquetes x año, en 10 sujetos el IMC fue $>30 \text{ kg/m}^2$, otros 10 sujetos por PAS y/o PAD $>160/90 \text{ mmHg}$, y otras causas en 2 voluntarios.

La edad media, la media de cigarrillos consumido entre los fumadores activos o ex-fumadores, la concentración de cLDL y apo B fueron similares entre hombres y mujeres (Tabla 4.1). Los valores de CT, cHDL , apo A y Lp(a)

fueron mayores en mujeres respecto a varones mientras que el resto de variables (PAS, PAD, IMC, perímetro de cintura abdominal, TG, PCR y glucosa) fueron mayores en el grupo de varones respecto al de mujeres. La mayoría de la población incluida en el estudio nunca había sido fumadora.

4.1.2 Distribución del grosor íntima-media de arteria carótida según edad y sexo.

Los varones presentaron mayor GIMc medio y máximo que las mujeres en cada uno de los segmentos explorados y en todos los grupos de edad (Tabla 4.1.1) aunque las diferencias observadas no alcanzaron significación estadística. Las diferencias entre sexos tendieron a desaparecer hacia la sexta década de la vida (Figura 4.1).

Al analizar la distribución de los valores medios del GIMc medio de todos los segmentos por sexos, en los varones el límite superior del intervalo osciló entre 0,59 mm en menores de 25 años y 0,95 mm en mayores de 65 años (Tabla 4.1.2). En los sujetos entre 25 y 45 años el límite superior de los valores del GIMc medio fue 0,65 mm. A partir de esta edad, se observó un aumento llamativo del GIMc alcanzando 0,75 mm en sujetos entre 45 y 54 años y de 0,84 mm en sujetos entre 55 y 64 años. En el grupo de mujeres el límite superior de la media total osciló entre 0,52 mm en menores de 25 años y 0,93 mm en mayores de 65 años (Tabla 4.1.2). Los límites superiores de los intervalos fueron 0,59 mm en el grupo entre 25 y 34 años, 0,62 mm en el grupo entre 35 y 44 años, 0,69 mm en aquellas entre 45 y 54 años y 0,81 mm en el grupo entre 55 y 64 años.

4.1.3 Factores determinantes del engrosamiento de la pared arterial

La edad resultó ser el principal factor determinante en el engrosamiento de la pared arterial de todos los segmentos explorados. El GIMc medio de todos los segmentos fue la medición en la que se obtuvo un modelo con el mayor valor predictivo de la muestra (R^2 ajustada = 0,669). Además de la edad (Beta = 0,662, $P < 0.001$) otras variables predictoras del GIMc fueron sexo masculino (Beta = 0,120, $P=0,027$), PAS (Beta= 0,135, $P=0,029$) y cLDL (Beta= 0,131, $P=0,029$) (Tabla 4.1.3). Por cada año de vida se registró un aumento del GIMc medio de 0,005 mm en el valor medio de los tres segmentos (Tabla 4.1.4) y de 0,008 mm en la media de los valores máximos de los tres segmentos (Tabla 4.1.5).

Al ajustar los valores del GIMc con respecto a edad y sexo se observó una asociación positiva entre el engrosamiento de la pared de la arteria carótida y las cifras de PAS (Figura 4.2) y la concentración de cLDL (Figura 3). El aumento del GIMc se observa para todo incremento en la PAS siendo el engrosamiento más evidente a partir de valores superiores a 120 mmHg. Lo mismo ocurre respecto a la concentración de cLDL. En este caso es a partir de 125 mg/dL cuando se observa un engrosamiento mayor del GIMc.

Tabla 4.1.1 Características clínicas, perfil bioquímico y valores de GIMc de la población incluida en el estudio, según sexo.

Variable	Hombre N= 64	Mujer N=74	P
Edad (años)	42,9 ± 15,7	44,5 ± 16,8	0,620
Hábito tabáquico, n (%)			
Nunca	38 (65,5)	59 (79,7)	0,146
Fumador activo	9 (15,5)	5 (6,8)	
Exfumador	11 (19,0)	10 (13,5)	
Presión arterial sistólica (mm/Hg)	121 ± 11,2	113 ± 14,5	0,001
Presión arterial diastólica (mmHg)	75,0 ± 7,5	70,5 ± 9,3	0,003
Índice de masa corporal (kg/m ²)	25,1 ± 2,7	23,0 ± 2,9	0,000
Perímetro abdominal (cm)	90,8 ± 8,8	78,4 ± 8,3	0,000
Colesterol total (mg/dl)	177 ± 24,4	191 ± 27,3	0,002
Colesterol LDL (mg/dl)	117 ± 23,8	121 ± 21,7	0,302
Colesterol HDL (mg/dl)	45,5 ± 8,6	59,0 ± 11,5	0,000
Triglicéridos (mg/dl)*	81,0 (49,5-105)	50,0 (39,0-74,0)	0,000
Apolipoproteína A (mg/dL)	130 ± 20,6	157 ± 30,3	0,000
Apolipoproteína B (mg/dL)	93,0 ± 19,7	89,0 ± 17,6	0,275
Lipoproteína (a) (mg/dL)*	9,0 (4,8-19,5)	18,1 (8,1-38,4)	0,006
Proteína C Reactiva (mg/L)*	1,5 (0,8-3,1)	0,9 (0,4-2,1)	0,012
Glucosa (mg/dL)	93,7 ± 12,1	86,6 ± 7,9	0,000
GIM medio CC (mm)	0,6743 ± 0,1433	0,6497 ± 0,1436	0,317
GIM medio BC (mm)	0,7408 ± 0,1773	0,6971 ± 0,1586	0,129
GIM medio CI (mm)	0,6412 ± 0,2066	0,5732 ± 0,1662	0,035
GIM medio tres segmentos (mm)	0,6872 ± 0,1436	0,6400 ± 0,1355	0,049
GIM máximo CC (mm)	0,8019 ± 0,1636	0,7622 ± 0,1658	0,161
GIM máximo BC (mm)	0,9729 ± 0,2275	0,9184 ± 0,2253	0,160
GIM máximo CI (mm)	0,8004 ± 0,2597	0,7135 ± 0,2075	0,031
GIM máximo tres segmento (mm)	0,8606 ± 0,1794	0,7980 ± 0,1704	0,038

Valores expresados en media ± DE o mediana (rango intercuartil)*, Paquetes/día x años= Número cigarrillos consumidos al día (cuantificados en paquetes; 1 paquete =20 cigarrillos) por el N° años de consumo.*

Tabla 4.1.2. Valores medios y límite superior de normalidad del GIMc según grupo de edad y sexo.

Segmento carotídeo	Grupo edad (años)	Hombres		Mujeres	
		Media (mm)	Límite superior (mm)	Media (mm)	Límite superior (mm)
GIM medio carótida común	< 25	0,5637	0,6167	0,4790	0,5559
	25 a 34	0,6155	0,6746	0,5107	0,6357
	35 a 44	0,6103	0,6667	0,5566	0,6216
	45 a 54	0,6715	0,8050	0,5955	0,7028
	55 a 64	0,7524	0,7948	0,6941	0,8326
	>64	0,8165	1,1252	0,7964	0,9841
GIM medio bulbo	< 25	0,6056	0,6970	0,4850	0,5865
	25 a 34	0,6477	0,6949	0,5763	0,6680
	35 a 44	0,6331	0,6904	0,6022	0,6996
	45 a 54	0,7811	0,8955	0,6224	0,7624
	55 a 64	0,8515	0,9472	0,7468	0,8728
	>64	0,9066	1,1589	0,8401	1,0805
GIM medio carótida interna	< 25	0,4202	0,5421	0,3932	0,4864
	25 a 34	0,5724	0,6433	0,4240	0,5225
	35 a 44	0,5964	0,6516	0,4795	0,5843
	45 a 54	0,6055	0,7187	0,4885	0,6998
	55 a 64	0,7363	0,8254	0,6024	0,7782
	>64	0,8199	1,1983	0,6124	0,9049
GIM medio tres segmentos	< 25	0,5465	0,5996	0,4663	0,5290
	25 a 34	0,6066	0,6581	0,5273	0,5851
	35 a 44	0,6181	0,6504	0,5565	0,6248
	45 a 54	0,6860	0,7558	0,6012	0,6893
	55 a 64	0,7801	0,8366	0,6998	0,8123
	>64	0,8477	0,9525	0,7715	0,9680

*El límite superior de la normalidad corresponde al percentil 75 de la distribución

Tabla 4.1.3. Variables asociadas de forma independiente con el GIMc medio de los tres segmentos carotídeos tras regresión lineal multivariante en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular ni historia personal de enfermedad cardiovascular.

Variable	B	P	95% intervalo de confianza	R ² ajustada	Beta
Constante	0,181	0,023	0,054-0,307		
Edad (años)	0,005	0,000	0,004-0,006	0,629	0,662
Sexo (hombre)	0,032	0,027	0,004-0,060	0,651	0,120
PAS (mmHg)	0,001	0,029	0,001-0,002	0,660	0,135
c LDL (mg/dL)	0,001	0,029	0,0005-0,001	0,669	0,131

Las variables introducidas en el modelo fueron aquellas con un valor de $P < 0,20$ en el análisis bivariado: edad, sexo, presión arterial sistólica, y colesterol LDL. PAS= presión arterial sistólica, cLDL, colesterol LDL

Figura 4.1.1 Valores del GIM de arteria carótida distribuidos según décadas de edad y sexo

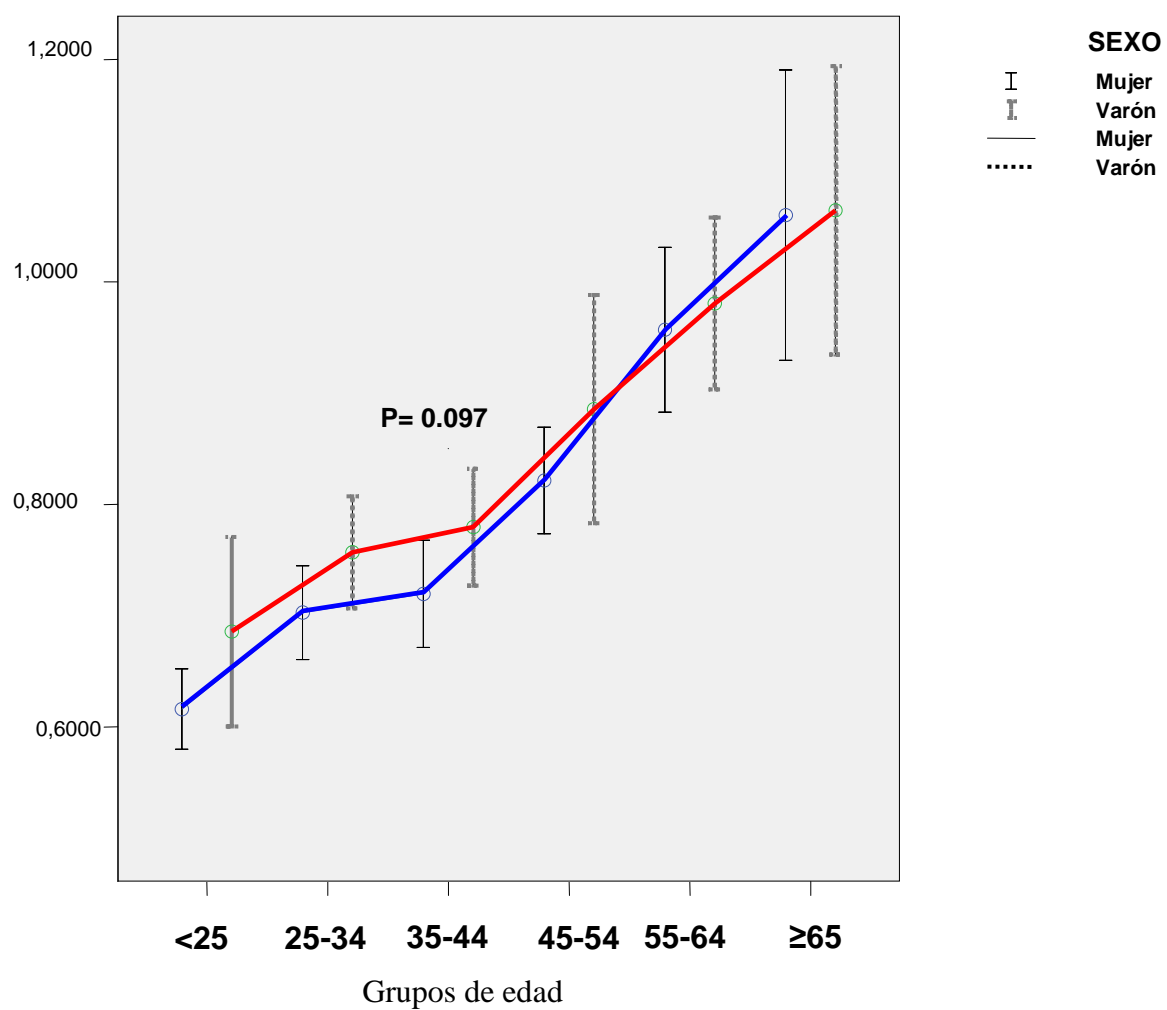


Figura 4.1.2 Valores del GIMc ajustados según concentración del cLDL

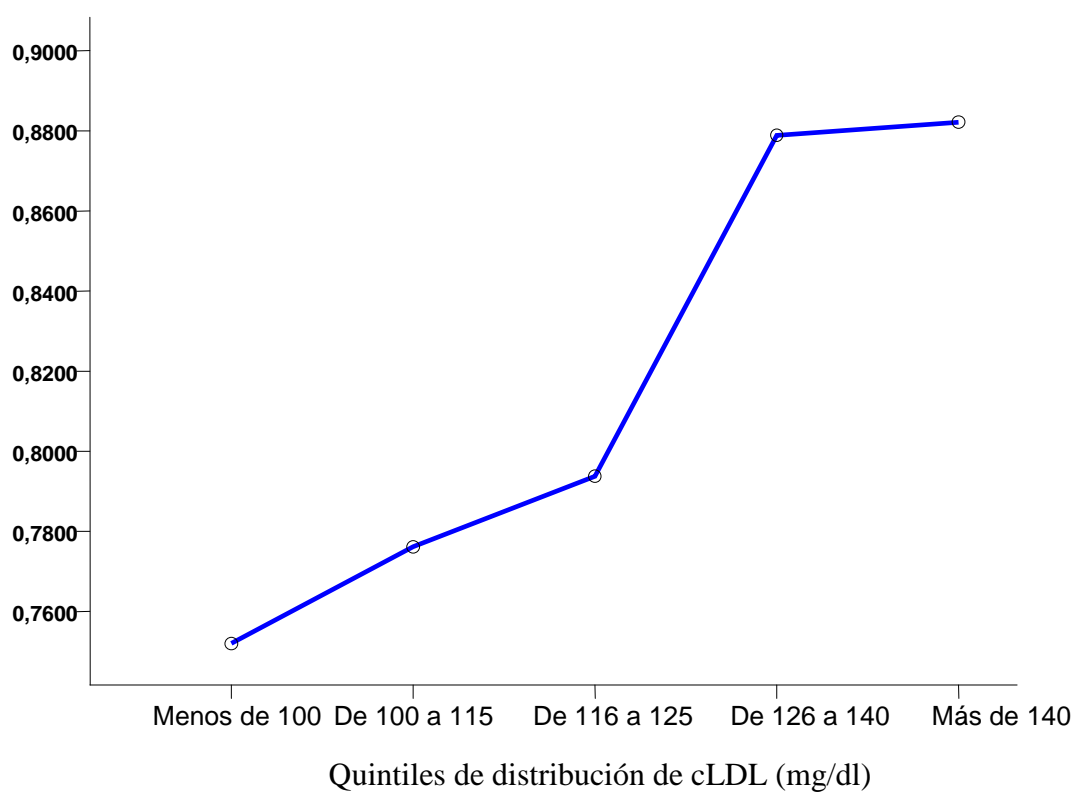
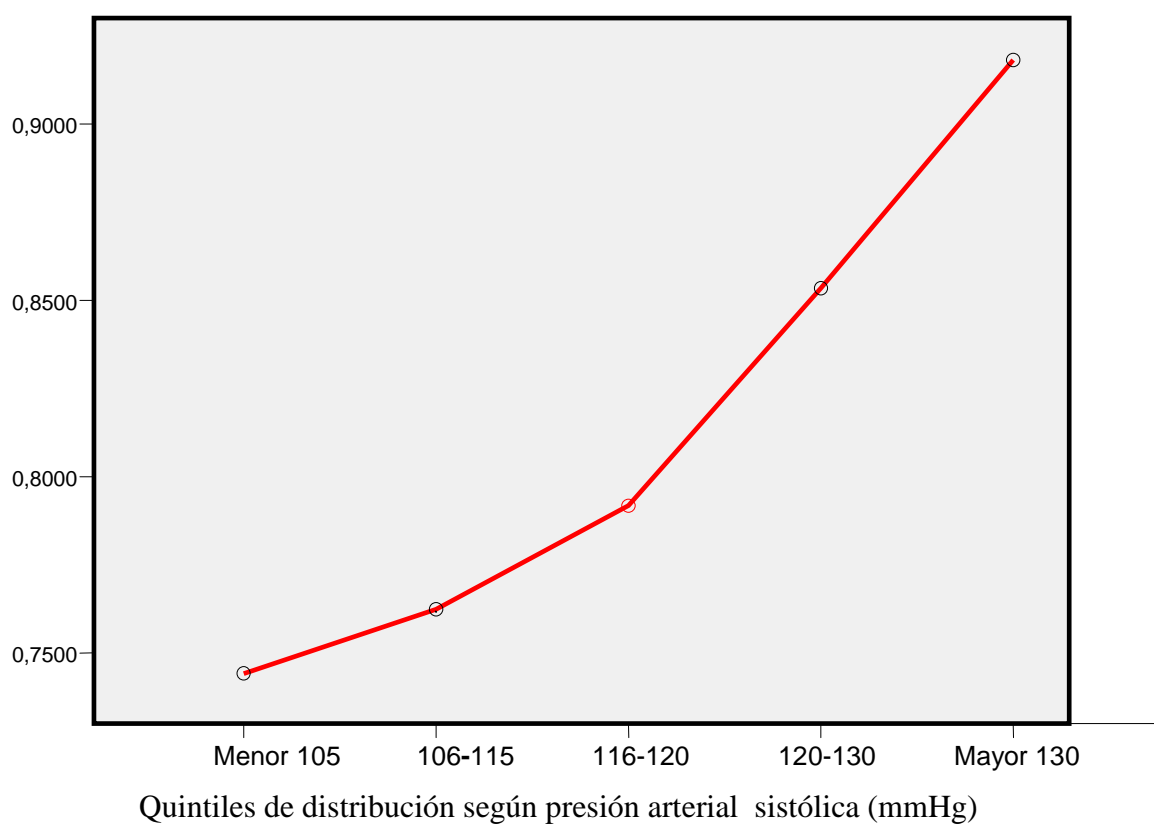


Figura 4.1.3 Valores del GIMc ajustados según presión arterial sistólica



4.2 RELACIÓN ENTRE EL TAMAÑO DEL TENDÓN DE AQUILES Y EL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA DE ARTERIA CARÓTIDA EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

4.2.1. Características clínicas:

La tabla 4.2.1 muestra la distribución de las variables demográficas, clínicas y lipídicas del grupo estudiado. Estudiamos un total de 217 sujetos (109 varones y 108 mujeres) entre 18 y 81 años reclutados en la Unidad de lípidos del Hospital Universitario Miguel Servet entre octubre de 2005 y abril de 2008. De ellos, 28 (12,9 %) tenían antecedentes personales de ECV prematura (18 varones y 10 mujeres). Los varones presentaron mayor IMC y concentración de TG que las mujeres mientras que la media de edad y los valores de cHDL fueron mayores en mujeres que en varones. La concentración de cLDL fue similar entre los grupos (Tabla 4.2.1)

4.2.2. Tamaño del tendón de Aquiles. Correlación con factores de riesgo cardiovascular y grosor íntima-media de arteria carótida.

El tamaño del tendón de Aquiles se correlacionó positivamente con el GIMc máximo y medio de los seis segmentos ($\theta=0,298$, $p<0.001$). En el análisis multivariante las variables asociadas de forma independiente con el tamaño del TA fueron cLDL, sexo masculino y edad (Tabla 4.2.2) Sin embargo, la contribución total de estas variables al tamaño del TA fue modesta.

4.2.3. Detección de xantoma tendinoso. Diferencia entre la exploración física y la exploración ecográfica.

El número de sujetos diagnosticados de XT mediante la exploración ecográfica fue mucho mayor que en la exploración física. 62 pacientes mostraron engrosamiento del TA detectado mediante palpación y en hasta 139 pacientes se realizó el mismo diagnóstico tras la exploración ecográfica del TA de acuerdo a los puntos de corte para la sección anteroposterior del tendón establecidos previamente (5,3 y 5,7 mm para varones menores y mayores de 45 años y 4,8 y 4,9 mm para mujeres menores y mayores de 50 años) ($p<0.001$).

En la figura 4.4 se muestra el porcentaje de sujetos con diagnóstico clínico de XT de acuerdo a los deciles del tamaño del TA descrito mediante ecografía. Cuando el TA era <5.35 mm, la detección clínica de XT fue rara, mientras que cuando alcanzó dimensiones >6.9 mm la mayoría de ellos era detectado en la exploración física. El porcentaje de detección de XT en los tamaños entre 5.35-7 mm fue más inconsistente.

4.2.4. El tamaño del tendón de Aquiles es un factor predictor del grosor íntima-media de arteria carótida.

En el análisis de regression multivariante la edad, el sexo masculino, la concentración de cLDL y el consumo de tabaco se asociaron de forma independiente con el tamaño del TA (Tabla 4.2.3). En un segundo paso, el grosor máximo del TA se mostró como factor de riesgo independiente del GIMc tras ajustar los valores por los principales FRCV, incrementando de forma significativa el valor de R^2 desde 0.397 hasta 0.410 ($p=0.006$ para el incremento de R^2).

Al agrupar según el modo de diagnóstico se demostró que aquellos sujetos con XT, bien en la exploración física o en la exploración ecográfica, presentaron un GIMc significativamente superior que el del resto de sujetos (figura 4.2.1),

mientras que aquellos en los que no se detectó XT por ninguno de los dos métodos presentaron un GIMc significativamente menor que en resto de los grupos. Como grupo intermedio, el grupo de pacientes XT detectado únicamente por ecografía mostraron valores de GIMc intermedios entre los otros dos grupos (figuras 4.2.2a y 4.2.2b). Según todos estos resultados se puede concluir que la exploración del TA mediante ecografía mejora la estratificación del riesgo cardiovascular en sujetos con heHF, principalmente mediante la detección de un subgrupo de pacientes con engrosamiento del TA no detectado con los métodos de exploración convencionales, en los que el riesgo cardiovascular está aumentado.

Tabla 4.2.1. Características clínicas y perfil lipídico de los pacientes estudiados según sexo.

Variable	Varón N= 109	Mujer N=108	P
Edad (años)	41.3 ± 13.6	45.7 ± 15.1	0.025
Fumadores, n (%)			0.267
No	59 (54.6)	48 (44.0)	
Si	25 (23.1)	35 (32.1)	
Ex	24 (22.2)	26 (23.9)	
Paquetes/día x años*	3 (0-20)	0 (0-11.5)	0.072
Enfermedad coronaria, n (%)	18 (16.5)	10(9.3)	0.082
HTA, n (%)	21 (19.4)	16 (14.8)	0.235
DM, n (%)	4 (3.67)	2 (1.85)	0.427
IMC (Kg/m2)	26.7 ± 3.66	24.1 ± 4.80	0.000
Colesterol total (mg/dl)	351.4 ± 62.0	366.0 ± 73.6	0.114
Colesterol LDL (mg/dl)	282.8 ± 60.6	287.0 ± 71.6	0.646
ColesterolHDL (mg/dl)	46.8 ± 10.8	59.2 ± 13.9	0.000
Triglicéridos (mg/dl)	99 (77-157)	82 (59-115)	0.003

Las variables están expresadas en media ± desviación estandard o mediana (rango intercuartil) según se distribuyan o no de acuerdo a curva de normalidad

HTA= hipertensión arterial, DM= diabetes mellitus, IMC= índice de masa corporal

Tabla 4.2.2. Variables asociadas de forma independiente con el valor máximo del tamaño del tendón de Aquiles. Resultados tras aplicar el análisis según el modelo de regresión multinomial.

Variable	B	P	Odds ratio	R2
			(95% interval de confianza)	
Colesterol LDL(mg/dL)	0.010	0.000	0.007-0.013	0.133
Sexo (varón)	0.694	0.001	0.289-1.100	0.155
Edad (años)	0.020	0.010	0.005-0.036	0.169
Constante	1.934	0.000	0.962-2.906	

Las variables introducidas en el modelo fueron aquellas con un valor $p \leq 0,2$ en el análisis de regresión inicial (edad, sexo, consumo de tabaco, hipertensión arterial, diabetes mellitus, cLDL, cHDL y triglicéridos).

Tabla 4.2.3. Modelo de regresión obtenido tras incluir edad, sexo, consumo de cigarrillos, hipertensión arterial, diabetes mellitus, índice de masa corporal, colesterol LDL, colesterol HDL y triglicéridos como variables predictoras del grosor íntima-media de arteria carótida.

Variable	B	P	Odds ratio(95% confidence interval)	R2 ajustada
Sexo (varón)	0.064	0.000	0.041-0.088	0.316
Edad (años)	0.005	0.000	0.004-0.006	0.376
Consumo de cigarrillos (Paquetes/día x años)	0.001	0.005	0.0005-0.002	0.395
Colesterol LDL	0.000	0.137	0.00006-0.0003	0.404
Media valores máximos del Grosor íntima-media de los 6 segmentos	0.009	0.006	0.002-0.015	0.414
Constante	-0.373	0.006	-0.430-(-0.316)	

Figura 4.2.1 Porcentaje de pacientes en los que se detectó XT en la exploración física de acuerdo al diámetro anteroposterior del TA medido mediante ecografía.

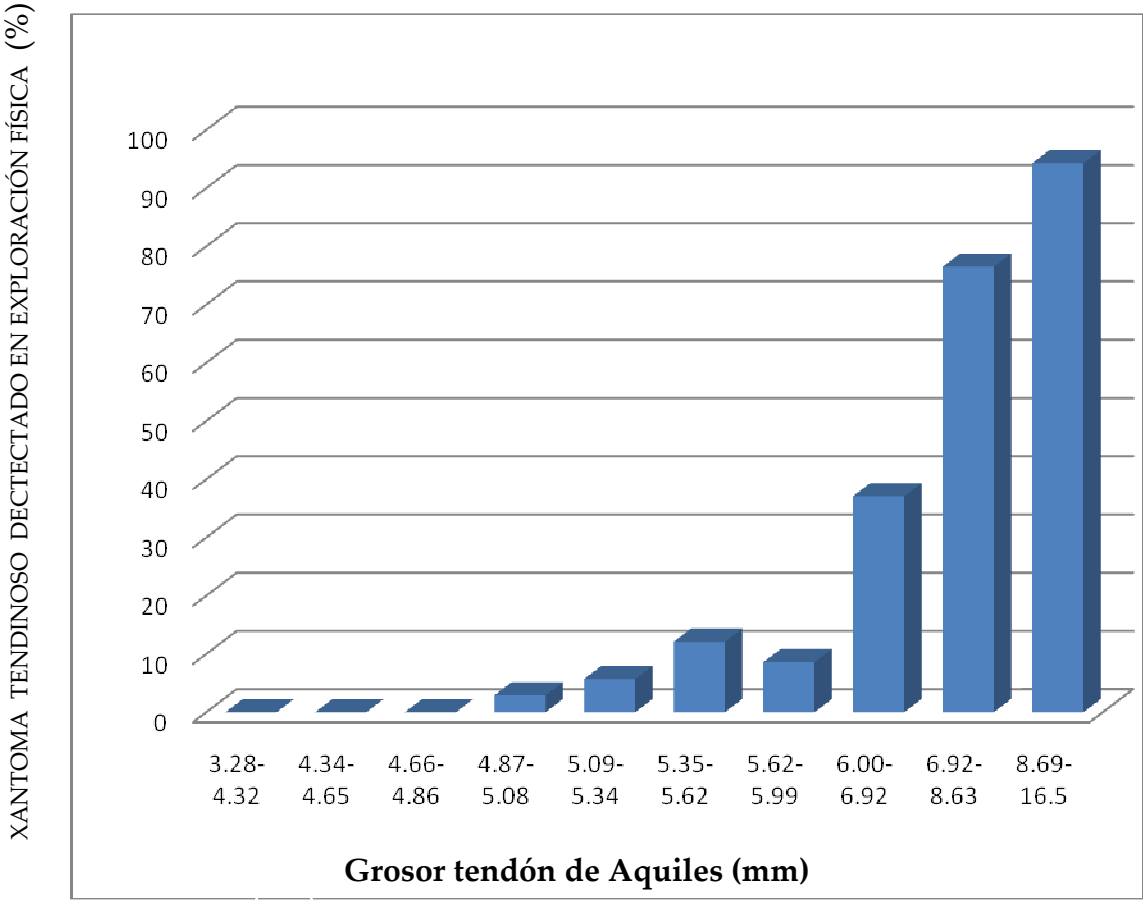


Figura 4.2.2a Distribución del grosor íntima-media de arteria carótida según el diagnóstico de xantoma tendinoso en varones

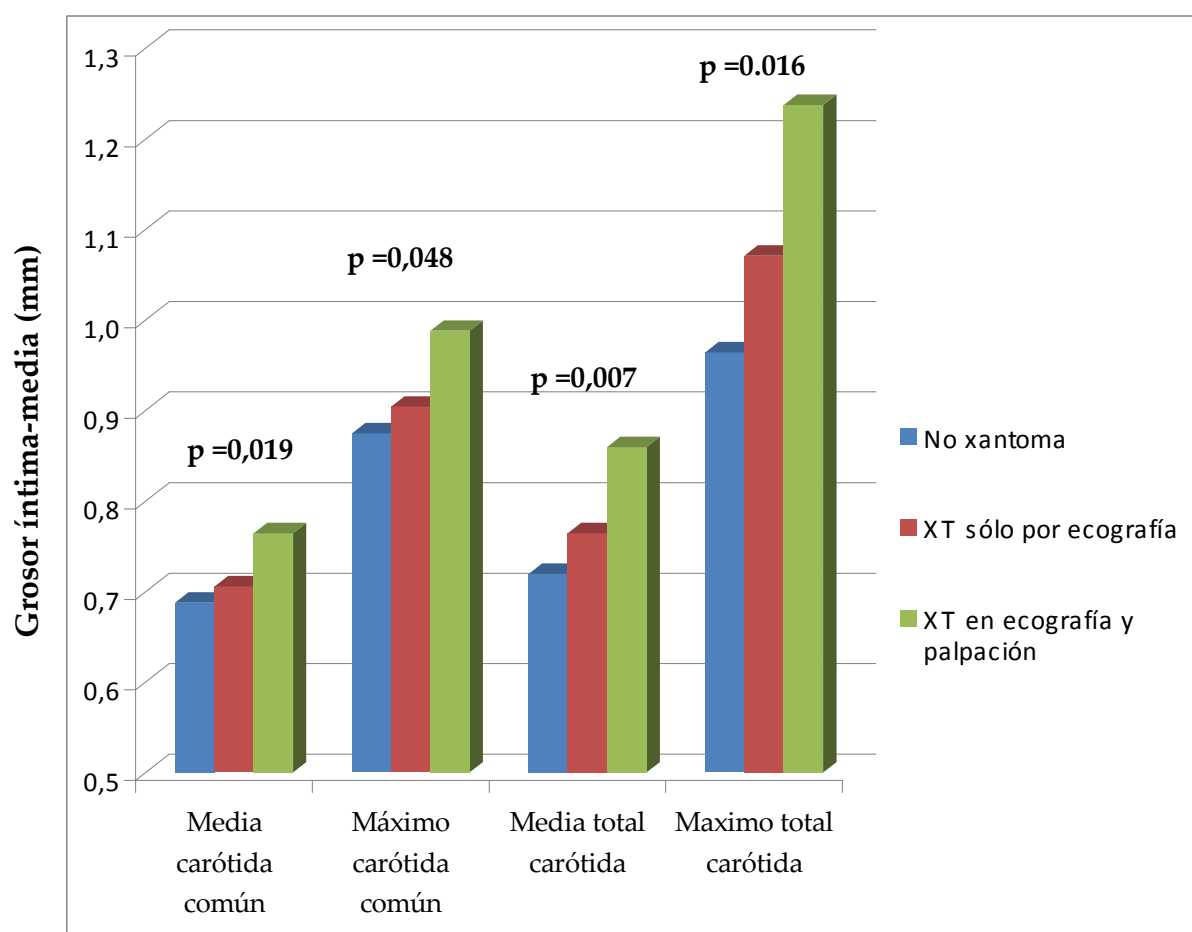
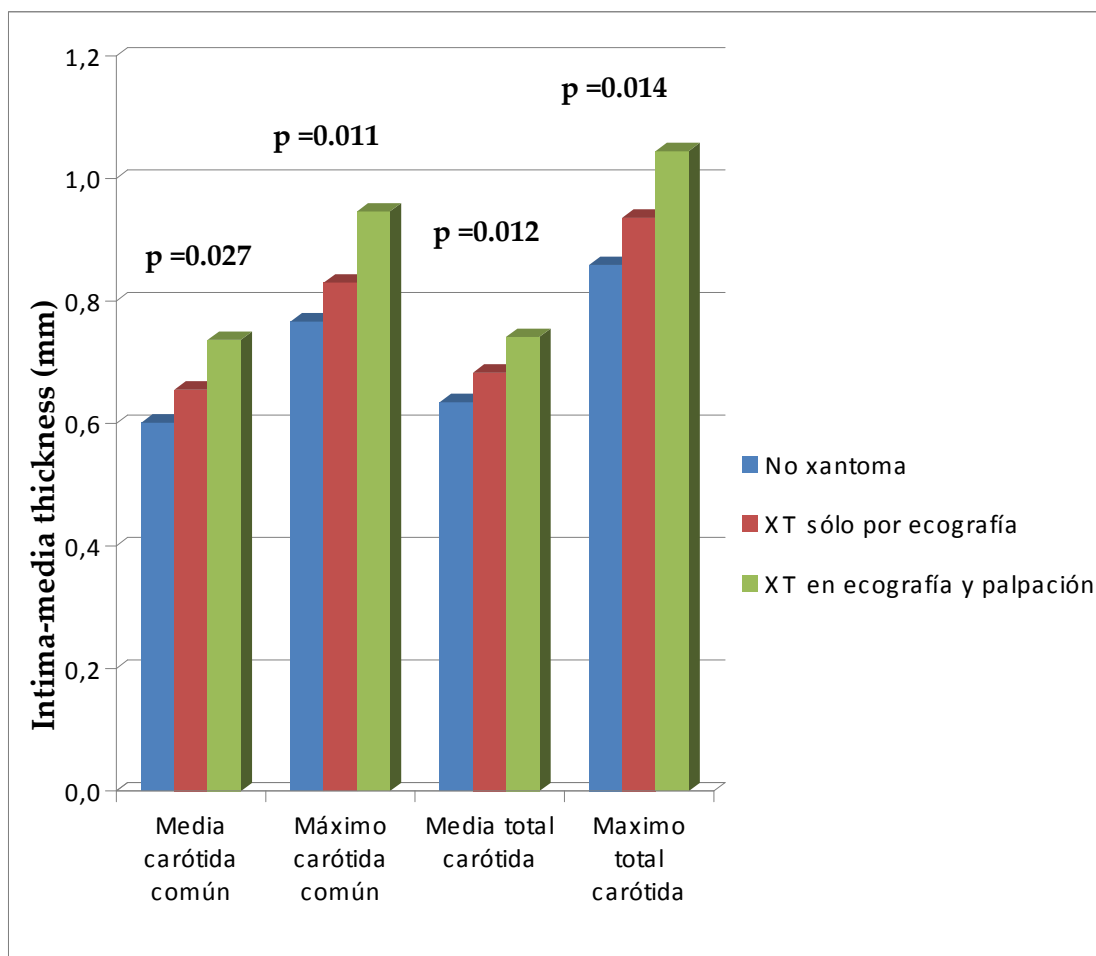


Figura 4.2.2b. Distribución del grosor íntima-media de arteria carótida según el diagnóstico de xantoma tendinoso en mujeres



4.3 COMPARACIÓN DEL GROSOR ÍNTIMA-MEDIA DE ARTERIA CARÓTIDA ENTRE SUJETOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR E HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA

4.3.1 Población del estudio y comparación de variables independientes del modelo

Se seleccionaron un total de 602 sujetos, reclutados en nuestra consulta desde octubre de 2005 a diciembre de 2008. De ellos, 432 fueron diagnosticados como hipercolesterolemia autosómica dominante (HAD) y 170 se clasificaron como hiperlipemia familiar combinada (HFC) según los criterios especificados en el apartado 2.

Entre los pacientes incluidos en el grupo de HFC la edad media fue mayor y hubo mayor proporción de varones que entre los incluidos en los otros grupos (48.9 ± 12.0 años vs 44 and 45 años) ($P < 0.001$) (tabla 4.3.1). En relación con el perfil lipídico el grupo con diagnóstico de HAD presentó concentraciones más elevadas de colesterol no HDL, apoA1, ApoB y Lp(a) más elevadas mientras que los valores de TG fueron mayores en el grupo de HFC. La prevalencia de otros FRCV fue también mayor en este último grupo con valores más elevados de IMC, PAS, consumo de tabaco, glucemia basal, PCR y proporción de HTA y DM. (HTA 28.7% vs 18.6%, $P < 0.001$; DM 8.2% vs 2.8%, $P = 0.001$) alcanzando significación estadística en la mayoría de las variables comparadas. Los valores de cHDL fueron menores en HFC respecto al resto de grupos comparados. (tabla 4.3.1). La proporción de sujetos en tratamiento con fármacos hipolipemiantes en el momento de ser incluidos en el estudio (estatinas en la mayoría de los casos) fue similar entre los grupos de HAD e HFC. (83,3% vs

82,1%). No hubo diferencias entre los grupos con dislipemia en el resto de variables recogidas, incluidos los antecedentes personales y familiares de ECV.

4.3.2 Comparación del engrosamiento de la pared arteria según el grupo de dislipemia y principales factores predictivos del grosor íntima-media de arteria carótida

Los valores del GIM fueron mayores en sujetos con HFC respecto al resto de grupos y de HAD respecto al grupo control (datos no mostrados). Después de ajustar los resultados por edad y sexo se siguió manteniendo las diferencias en los valores de GIMc a favor de HFC aunque sólo alcanzaron diferencias significativas en los valores máximos de los tres segmentos (1,038 mm vs 0,972 mm, $p=0,024$, tabla 4.3.2)

En el análisis de los resultados según grupos de edad se observó un incremento del GIMc con la edad que además resultó la principal variable predictiva de cualquier medida y segmento del GIMc. La superioridad de los valores de GIMc en sujetos con HFC se observaron incluso al estudiar los resultados por grupos de edad. Esta evolución fue mucho más acentuada a partir de la quinta década de vida en la que las diferencias entre ambos grupos se hacen mucho mayores (diferencias de 0,087 mm, $p=0,029$ para los valores máximos el GIMc y 0,020 mm, $p=0,221$ para valores medios de GIMc, (tablas 4.3.3a-c; figura 4.3.1)

Para evaluar la relación entre los valores de GIMc y el resto de variables recogidas en el modelo se utilizó la correlación de Spearman ya que los valores del GIMc no seguían una distribución normal. En la tabla 4.3.4a-c se resumen las principales variables predictivas de los valores máximos de GIMc. Tanto los valores del perfil lipídico como el resto de FRCV se asociaron de forma

significativa con los valores del GIMc. El estudio de los subtipos de lipoproteínas mediante resonancia magnética nuclear no aportó mayor poder predictivo al modelo respecto a las medidas convencionales de lipoproteínas (datos no mostrados). Sólo en los sujetos controles y con diagnóstico de HAD los subtipos de lipoproteínas se correlacionaron con el GIMc mientras que en el grupo de HFC no se observó ningún tipo de asociación (tabla 4.3.5). En el modelo final se incluyeron aquellas variables que presentaban mayor correlación con los valores del GIMc. Además de la edad, las concentraciones de colesterol fueron determinantes en el desarrollo de aterosclerosis subclínica tanto en el grupo control como en el grupo con diagnóstico de HAD. En el grupo de HFC, además de la edad, el GIMc se asoció de forma independiente con la PAS y la cantidad de tabaco consumida. En este caso el sexo no fue un factor determinante en el engrosamiento de la pared arterial.

Según el modelo de regresión lineal utilizado en este estudio la proporción de aterosclerosis predicha en sujetos controles fue mucho mayor que en el resto de grupos (68%, 36% y 41% en los grupos control, HAD e HFC) poniendo de relieve la importancia de otros factores no conocidos, probablemente genéticos en la determinación del riesgo cardiovascular de estos sujetos.

Tabla 4.3.1. Factores de riesgo cardiovascular y perfil lipídico según diagnóstico.

Variable	Control N= 200	HAD N=432	HFC N=170
Edad (años)	45.5 ± 16.4 ^b	46.1 ± 13.6 ^c	48.2 ± 13.3 ^{b,c}
Sexo (% varones)	40.9 ^{a,b}	49.0 ^{a,c}	67.2 ^{b,c}
Tabaquismo (%)			
NO	69.5 ^{a,b}	54.8 ^{a,c}	36.5 ^{b,c}
SI	13.5 ^{a,b}	23.7 ^{a,c}	26.6 ^{b,c}
EX	17.3 ^{a,b}	21.5 ^{a,c}	36.9 ^{b,c}
PAS (mm/Hg)	120 (110-130) ^{a,b}	127 (118-138) ^{a,c}	130 (121-141) ^{b,c}
PAD (mmHg)	73 (70-80) ^{a,b}	80 (70-85) ^{a,c}	82 (75-89) ^{b,c}
IMC (Kg/m2)	24.4± 3.42 ^b	25.3 ± 3.84 ^c	27.8 ± 3.16 ^{b,c}
Perímetro de cintura (cm)	85.4 ± 10.8 ^b	87.2 ± 12.1 ^c	96.3 ± 9.44 ^{b,c}
Hipertensión (%)	2.1 ^{a,b}	18.6 ^{a,c}	28.7 ^{b,c}
Diabetes Mellitus (%)	0 ^{a,b}	2.8 ^{a,c}	8.2 ^{b,c}
Tratamiento con estatinas (%)	0 ^{a,b}	83.3 ^{a,c}	82.1 ^{b,c}
H ^a familiar ECV (%)	0 ^{a,b}	36.2 ^a	31.6 ^b
ECV (%)	0 ^{a,b}	8.5 ^{a,c}	11.9 ^{b,c}

PAS= presión arterial sistólica; PAD= Presión arterial diastólica;
HAD= hipercolesterolemia autosómica dominante; HFC= hiperlipemia familiar combinada

Tabla 4.3.2 Distribución de variables del perfil cardiometabólico según grupo de diagnóstico

Variable	Control N= 200	HAD N=432	HFC N=170
Colesterol total (mg/dl)	197 (173 -224) ^{a,b}	321 (290-368) ^{a,c}	290 (265-319) ^{c,b}
Colesterol LDL (mg/dl)	127 (109-150) ^{a,b}	243 (212-293) ^{a,c}	199 (177-225) ^{b,c}
Colesterol HDL (mg/dl)	53 (44-66) ^b	52 (44-63) ^c	43 (35-52) ^{b,c}
Colesterol no HDL (mg/dl)	141 (120-167) ^{a,b}	266(233-312) ^{a,c}	245(222-277) ^{b,c}
Triglicéridos (mg/dl)	62 (44-90) ^{a,b}	99 (67-143) ^{a,c}	244 (194-342) ^{b,c}
Apolipoproteína A1 (mg/dl)	152 ± 31.3 ^b	147 ± 31.9 ^c	140 ± 25.9 ^{b,c}
Apolipoproteína B (mg/dl)	99.8 ± 23.2 ^{a,b}	171 ± 39.4 ^{a,c}	156 ± 28.0 ^{b,c}
Lipoproteína (a) (mg/dL)	14.5(6.79-40.6) ^{a,b}	29.0 (12.4-65.3) ^{a,c}	19.8(6.44-51.9) ^{b,c}
Proteína C Reactiva	1.45 (0.70-3.00) ^b	1.50 (0.50-3.00) ^c	2.30 (1.00-4.36) ^{b,c}
Glucosa (mg/dL)	88 (82-96) ^a	90 (83- 99) ^{a,c}	96 (89-108) ^{b,c}

HAD= hipercolesterolemia autosómica dominante; HFC= hiperlipemia familiar combinada

Tabla 4.3.3 Valores del GIMc ajustados por edad y sexo.

Todos los pacientes	Controles N= 200	HAD N=432	HFC N=170	P value
GIMc Máximo 6 segmentos	1.115 (1.136-1.195) ^{a,b}	1.325 (1.279-1.375) ^a	1.383 (1.308-1.458) ^b	<0.001
Media GIMc máximo	0.845 (0.794-0.896) ^{a,b}	0.972 (0.942-1.002) ^{a,c}	1.038 (0.990-1.086) ^{b,c}	<0.001
Media GIMc medio	0.673 (0.652-0.695) ^{a,b}	0.747 (0.734-0.759) ^a	0.762 (0.741-0.782) ^b	<0.001

a: P<0.005 al comparar valores del grupo control con HAD b: P<0.005 al comparar valores del grupo control con HFC. c: P<0.005 al comparar valores del grupo HAD con HFC
HAD hipercolesterolemia autosómica dominante. HFC= hiperlipemia familiar combinada

Tabla 4.3.3b

Edad ≤40 años	Controles N= 83	HAD N=152	HFC N=46	P value
GIMc				
Máximo 6 segmentos	0.908 (0.841-0.974) ^{a,b}	1.018 (0.978-1.059) ^a	1.079 (0.998-.1160) ^b	<0.001
Media GIMc máximo	0.717 (0.678-0,755) ^{a,b}	0.802 (0.778-0.825) ^a	0.802 (0.775-0.849) ^b	<0.001
Media GIMc medio	0.576 (0.553-.599) ^{a,b}	0.626 (0.612-0.640) ^a	0.623 (0.595-0.652) ^b	<0.001

Tabla 4.3.3c

Edad >40 años	Controles N= 118	HAD N=280	HFC N=124	P value
GIMc				
Máximo 6 segmentos	1.1199 1.076-1.322) ^{a,b}	1.506 (1.437-1.576) ^a	1.555 (1.454-1.656) ^b	<0.001
Media GIMc máximo	0.902 (0.822-0.983) ^{a,b}	1.072 (1.024-1.115) ^{a,c}	1.159 (1.093-1.224) ^{b,c}	<0.001
Media GIMc medio	0.721 (0.689-0.753) ^{a,b}	0.815 (0.797-0.833) ^a	0.835 (0.809-0.861) ^b	<0.001

a: P<0.005 al comparar valores del grupo control con HAD b: P<0.005 al comparar valores del grupo control con HFC. c: P<0.005 al comparar valores del grupo HAD con HFC. HAD=hipercolesterolemia autosómica dominante. HFC= hiperlipemia familiar combinada

Tabla 4.3.4a. Variables asociadas con LnGIMc Máximo según el modelo lineal multinomial según grupo diagnóstico.

CONTROLES

Variable	B	Riesgo relativo (95% intervalo confianza)	P	Beta	R2 ajustada
Constante	-0.791	-0.881- -0.702	0.000		
Edad (años)	0.009	0.008-0.011	0.000	0.709	0.610
Sexo (varón)	0.064	0.025-0.103	0.000	0.148	0.649
Consumo tabaco (paquetes/año)	0.003	0.001-0.004	0.001	0.151	0.671
Colesterol no HDL (mg/dl)	0.001	0.0002-0.002	0.012	0.128	0.682

Variables introducidas en el modelo ($P < 0.20$): edad, sexo, consumo de tabaco, índice de masa corporal, colesterol no HDL, cHDL

Tabla 4.3.4b.**HIPERCOLESTEROLEMIA AUTOSÓMICA DOMINANTE**

Variable	B	Riesgo relativo (95% interval de confianza)	P	Beta	R2 ajus tada
Constante	-0.754	-0.852- -656	0.000		
Edad (años)	0.011	0.010-0.013	0.000	0.563	0.306
Sexo (varón)	0.115	0.076-0.153	0.000	0.220	0.352
Colesterol no HDL (mg/dl)	0.0004	0.0001-0.001	0.004	0.110	0.363

Variables introducidas en el modelo ($P < 0.20$): edad, sexo, consumo de tabaco, índice de masa corporal, colesterol no HDL, cHDL, triglicéridos, proteína C reactiva, glucosa, presión arterial sistólica, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular.

Tabla 4.3.4c**HIPERLIPEMIA FAMILIAR COMBINADA**

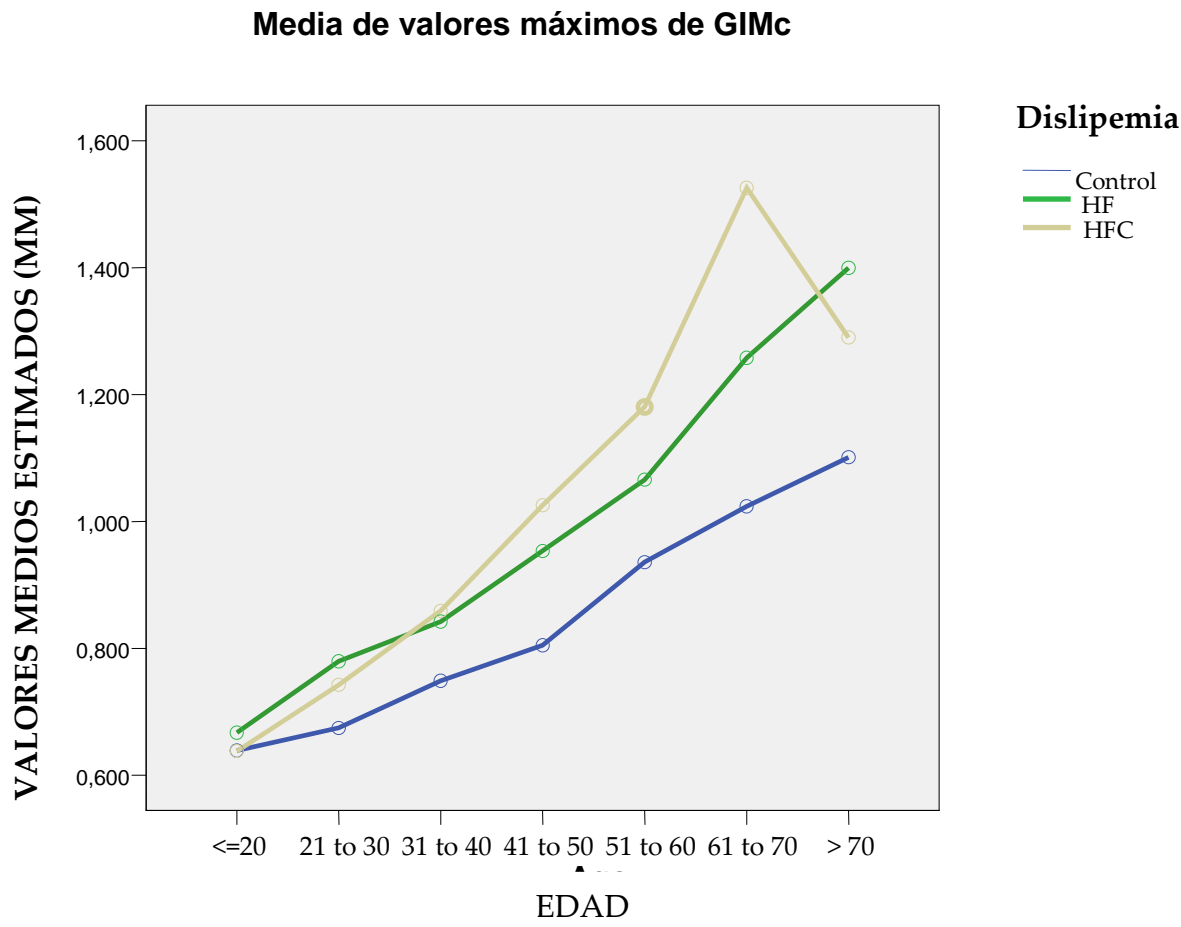
Variable	B	Riesgo relativo (95% intervalo confianza)	P	Beta	R2 ajustada
Constante	-1.016	-1.271- -0.761	0.000		
Edad (años)	0.011	0.008-0.013	0.000	0.489	0.334
Sexo (varón)	0.052	-0.017- 0.121	0.141	0.085	0.349
Presión arterial sistólica (mmHg)	0.003	0.001-0.005	0.002	0.190	0.389
Consumo de tabaco (Paquetes/año)	0.002	0.001-0.004	0.006	0.167	0.411

Variables introducidas en el modelo ($P < 0.20$): edad, sexo, consumo de tabaco, índice de masa corporal, colesterol no HDL, cHDL, triglicéridos, proteína C reactiva, glucosa, presión arterial sistólica, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular.

Tabla 4.3.5 Correlación entre los subtipos de lipoproteínas medidas mediante resonancia magnética nuclear y el grosor íntima-media carotídeo.

	Controles		Hipercolesterolemia Familia		Hiperlipemia Familiar Combinada	
	GIMc máximo 6 segmentos	GIMc medio 6 segmentos	GIMc máximo 6 segmentos	GIMc medio 6 segmentos	GIMc máximo 6 segmentos	GIMc medio 6 segmentos
Número de partículas						
VLDL y quilomicrones totales	0.226*	0.255*	0.145*	0.146*	-0.120	-0.084
VLDL y quilomicrones grandes	0.122	0.104	0.112 *	0.106	0.019	0.020
VLDL medianos	0.022	0.077	0.146 **	0.124 *	-0.101	-0.082
VLDL pequeños	0.294 **	0.315 **	0.144 **	0.141 **	-0.135	-0.100
LDL total	0.459 **	0.461 **	0.139 *	0.114 *	0.021	0.016
IDL total	0.158	0.180 *	0.110 *	0.120 *	-0.016	-0.021
LDL grandes	0.223 **	0.251 **	-0.062	-0.082	-0.019	0.016

Figura 4.3.1. Distribución de la media de valores máximos de GIMc según edad y diagnóstico



4.4 IMPACTO DEL TIPO DE MUTACIÓN EN EL GEN DEL RECEPTOR LDL EN EL DESARROLLO DE ATEROSCLEROSIS EN PACIENTES CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

En este estudio se ha evaluado la relación entre el tipo de mutación del rLDL y el desarrollo de aterosclerosis medido mediante el GIMc en sujetos con diagnóstico genético de heHF.

Se incluyeron un total de 436 pacientes de los cuales 180 fueron recogidos en nuestro centro. Del total de sujetos incluídos, 376 eran asintomáticos mientras que los 60 restantes tenían antecedentes personales de ECV (45 con IAM y 15 con angina). Los pacientes con historia personal de ECV eran de mayor edad, con mayor IMC y frecuencia de HTA y DM que el grupo de sujetos asintomáticos. Así mismo, este grupo presentó mayores concentraciones de TG y menores de cHDL que el grupo de pacientes asintomáticos

Al clasificar a los participantes de acuerdo a la actividad del rLDL no se detectaron diferencias en cuanto a características demográficas ni antropométricas, historia familiar o personal de ECV, HTA, ni uso previo de estatinas. Tanto el grupo de sujetos con alelo nulo como aquellos con alelo indeterminado presentaron un fenotipo lipídico más severo que aquellos con

alelo defectuoso con concentraciones de CT y cLDL más elevadas (tabla 4.4.1). En el análisis posterior no se incluyeron aquellos sujetos con actividad de rLDL indeterminada dado el desconocimiento existente sobre la actividad residual del rLDL en este grupo.

Al comparar los valores máximos del GIMc los pacientes con historia personal de ECV mostraron mayor engrosamiento de la pared arterial que aquellos asintomáticos. El conjunto de sujetos con heHF mostraron mayor engrosamiento de la pared arterial que el grupo control (tabla 4.4.2). Al considerar los valores máximos del GIMc como variable dependiente resultaron factores predictores independientes la edad, el IMC, y el consumo de tabaco explicando en conjunto el 24% de la variabilidad obtenida. En un modelo posterior se añadieron la presencia de xantomas y de alelos nulos del LDLR como factores predictores del GIMc explicando en conjunto el 30,6% de los valores obtenidos (tabla 4.2.3).

Tabla 4.4.1 Característica clínicas y perfil lipídico de pacientes heHF dependiendo del tipo de mutación del LDLR

Characteristics	Null alleles (n = 214)	Defective alleles (n = 190)	Undetermined alleles (n = 32)
Age in years, mean (range)	43 (18-82)	45 (18-79)	47 (18-70)
Male gender, n (%)	110 (51)	99 (52)	14 (44)
Clinical variables, n (%)			
Family history of early-onset CHD	89 (43)	93 (50)	16 (52)
Prior CHD	35 (16)	22 (12)	3 (9)
Ever smoked	93 (44)	90 (48)	9 (28)
Tendon xanthomas*	93 (44)	66 (35)	20 (63)
Body mass index, kg/m ²	25.1 ± 4.1	25.5 ± 4.0	25.7 ± 3.6
Systolic blood pressure, mm Hg	126 ± 18	127 ± 15	126 ± 16
Diastolic blood pressure, mm Hg	76 ± 11	78 ± 10	75 ± 10
Serum lipids, mg/dl			
Total cholesterol†	395 ± 77 ^a	364 ± 62 ^b	406 ± 77 ^a
LDL-cholesterol†	313 ± 74 ^a	286 ± 62 ^b	325 ± 74 ^a
HDL-cholesterol	50 ± 12	54 ± 15	54 ± 12
Triglycerides	115 ± 62	115 ± 62	115 ± 44
Total cholesterol/HDL ratio†	8.2 ± 2.5 ^a	7.4 ± 2.4 ^b	7.7 ± 2.1 ^{ab}
Prior statin treatment, n (%)	175 (82)	147 (77)	28 (88)

Values are means ± SD unless otherwise stated.

CHD, coronary heart disease.

*p < 0.05 by chi-square test, †p < 0.05 by ANOVA statistics.

Values within a row with different superscript letters are significantly different (p < 0.05, Bonferroni post-hoc test).

Tabla 4.4.2 Grosor intima-media de arteria carótida según en pacientes con hipercolesterolemia familiar con y sin enfermedad cardiovascular y controles, ajustado por edad, sexo y consumo de estatinas

Variables in mm	Asymptomatic FH (n = 376)	FH with prior CHD (n = 60)	Healthy controls (n = 268)
Mean CCA-IMT*	0.71 ± 0.01 ^a	0.71 ± 0.02 ^a	0.62 ± 0.01 ^b
Maximum CCA-IMT*	0.86 ± 0.01 ^a	0.84 ± 0.02 ^a	0.74 ± 0.02 ^b
Maximum carotid IMT*	1.29 ± 0.04 ^a	1.55 ± 0.08 ^b	0.92±0.05 ^c
Presence of plaques, n (%)†	182 (48)	46 (77)	75 (28)

Values are adjusted-means ± SEM.

CHD, coronary heart disease; CCA, common carotid artery.

*p < 0.05 by ANCOVA. Values within a row with different superscript letters are significantly different (p < 0.05 by Bonferroni post-hoc test). †p < 0.01 by chi-square test.

Tabla 4.4.3 Variables asociados de forma independiente con el grosor íntima-media de arteria carótida en sujetos con hipercolesterolemia familiar, según el análisis de regresión por pasos.

FH with all mutations except undetermined alleles (n=404)					
Dependent variable	Variables	B	Beta	P value	Adjusted R ²
Mean CCA-IMT	Constant	0.17		<0.001	0.293
	Age x 10 y	0.05	0.43	<0.001	
	Smoking	0.06	0.16	<0.001	
	Body mass index	0.01	0.12	0.013	
	Systolic BP x 10 mm Hg	0.01	0.10	0.039	
Maximum CCA-IMT	Constant	0.32		<0.001	0.240
	Age x 10 y	0.06	0.40	<0.001	
	Body mass index	0.01	0.16	0.001	
	Smoking	0.06	0.14	0.002	
Maximum carotid IMT	Constant	0.16		0.134	0.306
	Age x 10 y	0.23	0.50	<0.001	
	Sex (female)	-0.21	-0.17	<0.001	
	Smoking	0.17	0.13	0.004	
	Null allele	0.15	0.11	0.011	
	Tendon xanthomas	0.13	0.10	0.030	

Variables entered into the model were age, sex, tendon xanthomas, smoking, body mass index, systolic blood pressure (BP), fasting blood glucose, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol, triglycerides, prior statin treatment, and mutational class.

4.5 SOBREEXPRESIÓN DEL GEN CXCL3 EN RESPUESTA A LDL OXIDADA Y ASOCIACIÓN CON LA PRESENCIA DE XANTOMAS TENDINOSOS EN SUJETOS CON HIPERCOLESTEROLEMIA FAMILIAR

La expresión clínica de la heHF es muy variable en términos de elevación de las concentraciones de CT y cLDL, presencia de XT, edad de comienzo y severidad de ECV, incluso en sujetos con el mismo defecto genético. Los XT son muy específicos de heHF, con una prevalencia entre el 30 y el 50% de estos pacientes. Sin embargo el mecanismo por el cual se produce el engrosamiento del TA es desconocido. Recientemente se ha demostrado diferente respuesta inflamatoria frente a LDLox entre sujetos con y sin XT. Según lo expuesto hasta el momento, nuestra hipótesis es que existe diferencias en la expresión de ciertas quimioquinas y citoquinas inflamatorias en respuesta a LDLox que pueden estar implicadas en el desarrollo de XT.

Estudiamos 19 sujetos con diagnóstico genético de heHF, 12 varones y 7 mujeres. De ellos 9 presentaban XT en la exploración física mientras que los 10 restantes presentaban un TA normal. En todos ellos se obtuvieron las concentraciones de CT, cLDL, cHDL, Lp(a) y TG de acuerdo a los métodos descritos previamente (ver apartado métodos). En el momento de ser incluídos en el estudio ninguno de ellos estaba siendo tratado con ningún fármaco hipolipemiante. En todos ellos se realizó una ecografía del TA mediante un ecógrafo Acuson Siemets según el protocolo descrito previamente (ver apartado métodos) utilizándose el diámetro anteroposterior como medida más fiable del tamaño del TA. Para el diagnóstico de XT mediante ecografía se

utilizaron como límite superior de normalidad 6 mm en varones y 5 mm en mujeres. Para el propósito de este estudio se seleccionaron aquellos sujetos con diámetro anteroposterior del TA por encima de +1 desviación estándar (varones mayor de 10,12 mm; mujeres mayor de 9,61 mm). También se realizó la medición del GIMc en cada sujetos obteniendo los valores medios y máximos de los 6 segmentos evaluados, de acuerdo al protocolo descrito previamente (ver métodos). Las partículas de LDL fueron aisladas de un paciente con HF homocigota sometido periódicamente a sulfato de dextrano LDL aféresis. Posteriormente estas partículas fueron sometidas a oxidación en nuestro laboratorio. Por último, tras 10 días de cultivo se extrajo el RNA total a partir de los macrófagos aislados.

En cada uno de los sujetos incluídos en el estudio se aislaron células mononucleares mediante centrifugación a partir de 40 ml de sangre periférica con 10 U/ml de heparina de litio. La cuantificación de citoquinas, IL-8, IL-1 β y TNF α se llevó a cabo en el suero obtenido al inicio y tras 18 horas de incubación con LDLox de 12 sujetos (XT+=7, XT-=5) mediante ELISA (tabla 4.5.1).

Los sujetos con XT fueron mayores que aquellos sin XT además de mostrar un diámetro anteroposterior del TA mayor ($12,2 \pm 2,32$ vs $5,52 \pm 0,90$ mm). Igualmente los valores del GIMc fueron mayores en el primer grupo respecto al segundo ($1,02 \pm 0,23$ vs $0,79 \pm 0,14$, $p=0,025$). No se observaron diferencias entre grupos respecto al sexo ni en el resto de variables relacionadas con el perfil lipídico (tabla 4.5.1). En los cultivos de macrófagos se detectó únicamente IL-8. Tras incubación con LDLox la concentración de IL-8 aumentó en el grupo con XT+ respecto al grupo con XT- (309 ± 253 pg/mL vs $189 \pm 88,1$ pg/mL) si bien las diferencias no fueron significativas. Si que se detectaron diferencias

significativas entre los grupos en la razón IL-8 antes/ IL-8 después de incubación del suero con LDLox (figura 4.7). En cuanto a la expresión de genes de moléculas inflamatorias no se obtuvieron diferencias en la expresión de expresión de IL-1 β , PPAR- gamma ni TNF- α . Se observó una tendencia positiva en la expresión del gen de IL-8 con el aumento del tamaño del TA después de 18 horas de incubación. La expresión del gen de CXCL3 fue mayor en el grupo con XT+ con respecto al grupo de XT- siendo significativa tras cortos tiempos de incubación. La expresión del gen de CXCL3 fue menor en aquellos sujetos en el tercil inferior del tamaño del TA aumentando progresivamente en el segundo tercil y alcanzando valores máximos en el tercer tercil de la distribución (figura 4.5.2).

Tabla 4.5.1. Datos antropométricos y perfil lipídico en los sujetos incluidos en este estudio de acuerdo a la presencia o ausencia de xantoma tendinoso

	FH TX-	FH TX+	<i>p</i>
<i>n</i>	10	9	
Age (years)	41.3 ± 8.76	50.9 ± 4.59	0.010
Gender, male/female	7/3	5/4	
ATD (mm)	5.52 ± 0.90	12.2 ± 2.32	<0.001
BMI (Kg/m ²)	26.6 ± 2.22	27.1 ± 4.42	NS
Mean carotid IMT (mm)	0.79 ± 0.14	1.02 ± 0.23	0.025
Total-cholesterol (mg/dL)	377 ± 60.7	415 ± 82.2	NS
LDL-cholesterol (mg/dL)	304 ± 55.5	337 ± 81.4	NS
HDL-cholesterol (mg/dL)	50.9 ± 12.9	52.9 ± 14.6	NS
Triglycerides (mg/dL)	113 ± 68.8	125 ± 63.9	NS
Lipoprotein(a) (mg/dL)	43.0 ± 42.1	70.9 ± 40.9	NS

Data are shown as mean ± standard deviation. FH, familial hypercholesterolemia;

TX-, absence of tendon xanthomas; TX+, presence of tendon xanthomas; ATD,

Achilles tendon diameter; BMI, body mass index; IMT, intima-media thickness; NS,

non-significant.

Figura 4.5.1 Distribución de los valores de IL-8 en sujetos con y sin LDL oxidada separados de acuerdo a la presencia de xantomas tendinosos

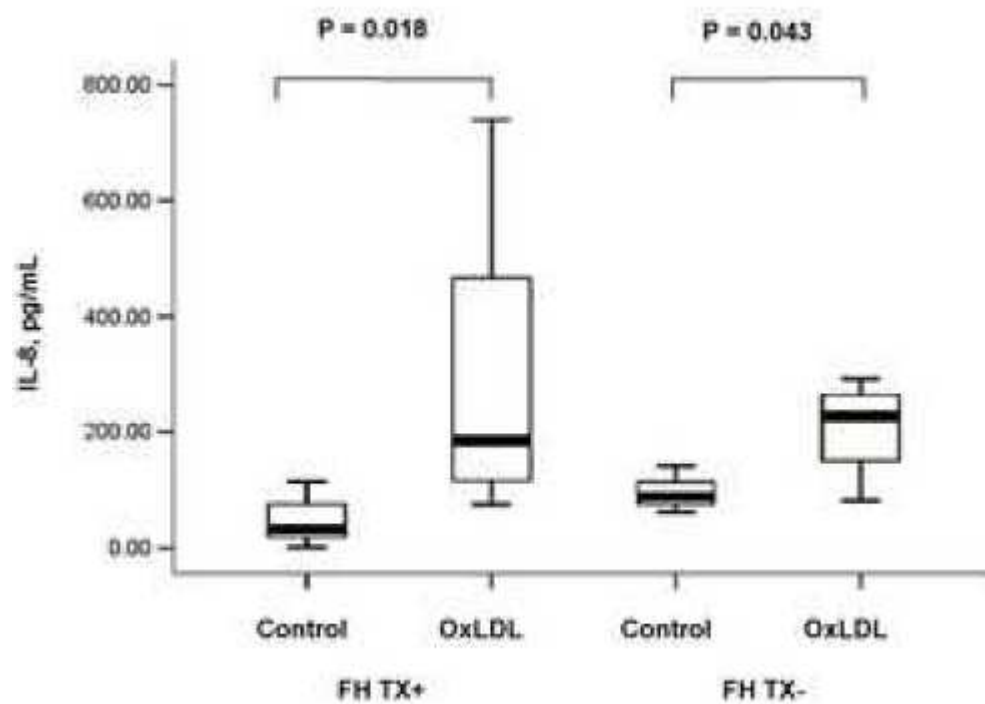


Tabla 4.5.2. Expresión de CXCL en diferentes tiempos de incubación con LDL oxidada en grupos según el tercil del tamaño del tendón de Aquiles

	1 st tertile	2 nd tertile	3 th tertile
<i>n</i>	6	7	6
ATD (mm)	5.15 ± 0.39	8.25 ± 1.63	14.75 ± 3.37
CXCL3 1h	7.79 (5.18-10.6)	10.8 (3.51-16.8)	11.2 (6.02-16.2)
CXCL3 3h	5.83 (3.52-8.22)	9.13 (4.62-13.6)	10.7 (5.63-15.1)
CXCL3 6h	5.29 (3.72-6.58)	9.01 (5.02-12.5)	8.61 (3.77-14.9)
CXCL3 18h	3.05 (1.83-4.22)	4.88 (1.80-6.60)	4.88 (1.77-7.49)

Data are shown as mean ± standard deviation and median (interquartile range). ATD, Achilles tendon diameter.

5 CONCLUSIONES

5.1 En sujetos sin historia previa de enfermedad cardiovascular, factores de riesgo cardiovascular clásicos ni historia familiar de enfermedad cardiovascular, el límite superior de normalidad de los valores medios del GIMc en sujetos entre 20 y 79 años se encuentran entre 0,59 y 0,95 mm en varones y 0,52 y 0,93 mm en mujeres. El límite superior de la media de los valores máximos (percentil 75) osciló entre 0,81 y 1,11 mm en varones y 0,66 y 1,13 mm en mujeres. La edad y el sexo resultaron ser los principales factores asociados con el engrosamiento de la pared arterial siendo los valores diferentes entre varones y mujeres hasta la sexta década de vida. Otras variables predictoras del GIMc en esta población fueron los valores de PAS y cLDL. El modelo además demuestra una gran validez siendo capaz de predecir el 67% del total del valor del GIMc.

5.2 El diámetro anteroposterior del TA medido mediante ecografía está relacionado de forma directa con el grado de aterosclerosis en sujetos con HF. Dicho engrosamiento fue mayor en aquel grupo de sujetos en los que se detectó XT mediante palpación. La exploración del TA mediante ecografía nos permite detectar un subgrupo de pacientes con un riesgo cardiovascular intermedio entre aquellos con XT y el grupo en los que el que no se comprobó engrosamiento del TA ni por exploración física, ni mediante ecografía. La medición del tamaño del TA mediante ecografía mejora la estratificación del riesgo cardiovascular en sujetos con heHF.

5.3 El grado de aterosclerosis determinado mediante el GIMc fue mayor en sujetos con HAD e HFC respecto al grupo normolipémico. Los sujetos con HAD presentaron valores de GIMc más elevados que el resto de sujetos desde el principio de la distribución mientras que aquellos con HFC mostraron mayor progresión global del GIMc, principalmente a partir de la cuarta década de la vida. Los resultados obtenidos destacan la importancia en el desarrollo de aterosclerosis de los FRCV no asociados con el perfil lipídico, especialmente en sujetos con HFC. Estos resultados evidencian el alto grado de arterosclerosis en sujetos con HFC así como el alto riesgo cardiovascular, tanto en heHF como en HFC.

5.4 En adultos con heHF la mutación del LDLR que asocia una actividad nula del rLDL muestra un fenotipo más severo, con mayores concentraciones de CT, cLDL y mayor desarrollo de aterosclerosis que en el grupo de sujetos con alelo defectuoso. La presencia de alelo nulo se relaciona de forma independiente con el grosor máximo de la pared arterial que está aumentada 0,15 mm respecto a grupos con alelos defectuosos. El diagnóstico genético de heFH puede ser útil para estratificar a los pacientes según su riesgo cardiovascular, los cuales podrían ser subsidiarios de un tratamiento hipolipemiante más intensivo.

5.5 Los macrófagos de los sujetos con heHF y XT+ parecen mostrar una mayor actividad inflamatoria que la de los macrófagos de aquellos sin XT. Los macrófagos de sujetos con XT+ muestran mayor predisposición a la respuesta inflamatoria tras el estímulo con LDLox que aquellos sujetos sin XT. Tanto IL-8

como las quimioquinas de la familia CXCL3, principalmente la quimioquina CLCX3 se correlacionan de forma positiva con el tamaño del TA.

6 BIBLIOGRAFÍA

1. Ross R. Atherosclerosis. An inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;340:115-26.
2. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *JAMA*. 1979;241:2035-38.
3. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
4. Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and arterial smooth muscle cell.Proliferation of Smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*. 1973; 180:1332-39.
5. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15:1512-31.
6. Schewenke DC, Carew TE. Initiation of atherosclerotic lesions in Cholesterol-fed rabbits,II.selective retention of LDL vs. Selective increases of LDLc permeability insusceptible sites of arteries. *Atherosclerosis*. 1989;9:908-18.
7. Fogelman AM, Berliner JA, Van Lenten BJ, et al. Lipoprotein receptors and endothelial cells. *Semin Thromb Hemost*. 1988;14:206-09.
8. Bar RS. Interaction of insulin and insulin-like growth factors (IGF) with endotelial cells. *Ann N Y Acad Sci*. 1982;401:150-62.

9. Simionescu N, Heltianu C, Antohe F, et al. Endothelial cell receptors for histamine. *Ann N Y Acad Sci.* 1982;401:132-49.
10. Mondi JS, Lindner V, Miyashiro JS, et al. Platelet-derived growth factor ligand and receptor expression in response to altered flow in vivo. *Circ Res.* 1997;81:320-27.
11. Rajavashisth TB, Andalibi A, Territo MC, et al. Induction of endothelial cell expression of granulocyte and macrophage colony-stimulating factors by modified low-density lipoproteins. *Nature.* 1990;344:254-57.
12. Gerrity RG. The role of monocyte in atherogenesis, II: migration of foam cells from atherosclerotic lesions. *Am J Pathol.* 1981;103:191-200.
13. Morel DW, Hessler JR, Chisholm GM. Low density lipoprotein cytotoxicity induced by free radical peroxidation of lipid. *J Lipid Res.* 1983;24:1070-76.
14. Assmann G, Gotto AM jr, Phil D. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:8-14.
15. Rosenfeld ME, Ross R. Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis.* 1990;10:680-87.
16. Raines EW RM, Ross R. The role of macrophage. In: Fuster V, Ross V, Topol EJ, eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease.* Vol 1. Philadelphia: Lippincott-Raven. 1996:539-55.
17. Stemme S, Faber B, Holm J, et al. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1995; 92: 3893-97.
18. Ross R The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature.* 1993;362:801-09.
19. Bombeli T, Swartz BR, Harlan JM. Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb/IIIa-dependent bridging

- mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), $\alpha_v\beta_3$ integrin, and GPIIb. *J Exp Med*. 1998;187:329-39.
20. Faxon DP, Fuster V, Libby P, et al. Atherosclerotic Vascular Disease Conference: Writing Group III: pathophysiology. *Circulation*. 2004;109:2617-25.
 21. Berenson GS, Srinivasan SR, Bao W, et al. Association between multiple cardiovascular risk factors and atherosclerosis in children and young adults. *N Engl J Med*. 1998; 338:1650-56.
 22. Stary HC, Blankenhorn DH, Chandler AB, et al. A definition of the intima of human arteries and of its atherosclerosis-prone regions. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1992;85:391-405.
 23. Stary H. The sequence of cell and matrix changes in atherosclerotic lesions of coronary arteries in the first forty years of life. *Eur Heart J*. 1990; 11:03-19.
 24. Brook GJ, Keidar S, Boulos M et al. Familial homozygous hypercholesterolemia: clinical and cardiovascular features in 18 patients. *Clin Cardiol*. 1989;12:333-338.
 25. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316:1371-5.
 26. Beeuwkes R III, Barger C, Silverman KJ, et al. Cinemicrographic studies of the vasa vasorum of human coronary arteries. IN: Glagov S, Newman WP, Schaffer SA eds. *Pathobiology of the human atherosclerotic plaque*. New York, NY: Springer-Verlag. 1990:425-32.
 27. Van der Wal AC, Becker AE, Van der Loos CM, et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation*. 1994;89:36-44

28. Ambrose JA, Winters SL, Stern A, et al. Angiographic morphology and the pathogenesis of unstable angina pectoris. *J Am Coll Cardiol*. 1985; 5: 609-16.
29. Hackett D, Davies G, Masseri A. Preexisting coronary stenosis in patients with preexisting myocardial infarction are no necessarily severe. *Eur Heart J*. 1988;13:17-23.
30. Falk E. Why do plaques rupture? *Circulation*. 1992;86: 30-42.
31. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, et al. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Atheroscl Throm Vasc Biol*. 2000;20:1262-1275.
32. Burke AP, Kolodgie FD, Farb A, et al. Healed plaque ruptures and sudden coronary death: evidence that subclinical rupture has a role in plaque progression. *Circulation*, 2001;103:934-40.
33. Nobuyoshi M, Tanaka M, Nosaka H, et al. Progression of coronary atherosclerosis: is coronary spasm related to progression? *J Am Coll Cardiol*. 1991;18:904-10.
34. Richardson PD, Davies MT, Born GV et al. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. *Lancet*. 1989;2:941-44.
35. Naghavi M, Libby P, Falk E, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I. *Circulation* 2003;108:1664-72.
36. Steinberg D. An interpretive history of the cholesterol controversy, part V: The discovery of the statins and the end of the controversy. *J Lipid Res*. 2006;47:1339-51.
37. Rosenfeld ME RR. Macrophage and smooth muscle cell proliferation in atherosclerotic lesions of WHHL and comparably hypercholesterolemic fat-fed rabbits. *Arteriosclerosis*. 1990; 10: 680-87.

38. Nissen SE, Tuzcu EM, Schoenhagen P, et al. Effect of intensive compared with moderate lipid-lowering therapy on progression of coronary atherosclerosis. *JAMA*. 2004; 291:1071-80.
39. Sheperd J, Cobbe SM, Ford I, et al. for The West of Scotland Coronary Prevention Study Group. Prevention of coronary heart disease in men with hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 1995;333:1301-07.
40. Downs JR, Clearfield M, Weis S, et al. for the AFCAPS/TexCAPS Research Group. Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/TexCAPS. *JAMA*. 1998;279:1615-22.
41. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, et al. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008;359:2195-07
42. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*, 1994.344:1383-89.
43. Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1001-09
44. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. *N Engl J Med*, 1998;339:1349-57.
45. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, et al. Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med*. 2005; 352:1425-35.

46. Vegazo O, Banegas JR, Civeira F, et al. [Prevalence of dyslipidemia in outpatients of the Spanish health service: the HISPALIPID Study]. *Med Clin (Barc)*. 2006; 127:331-34.
47. Barter P, Gotto AM, La Rosa JC, et al. HDL cholesterol, very low levels of LDL cholesterol and cardiovascular events. *N Engl J Med*. 2007;357:1301-10.
48. Gordon T, Castelli WP, Hjortland M, et al. High Density lipoprotein as a protective factor against coronary artery disease: The Framingham Study. *Am J Med*. 1977;62:707-14.
49. Gordon DJ, Probstfield JC, Garrison RJ, et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease; four prospective american studies. *Circulation*. 1989;79:08-15.
50. Rubins HB, Robins SJ, Collins D, et al. Genfibrozil for secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoproteincholesterol. *N Engl J Med*. 1999;341:410-18.
51. Goldstein JL, Hazzard WR, Schrott HG, et al. Hyperlipidemia in coronary heart disease. I. Lipid levels in 500 survivors of myocardial infarction. *J Clin Invest*. 1973;52:1533-43.
52. Ginsberg HN. Diabetic dyslipidemia: basic mechanisms underlying the common hypertriglyceridemia and low HDL cholesterol levels. *Diabetes*. 1996;45:27-30.
53. Assmann G, Schulte H. Relation of High-density cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). *Am J Cardiol*. 1992;70:733-37.
54. Karpe F. Postprandial lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *J Intern Med*. 1999;246:341-55.
55. Ayyobi AF, McGladdery SH, McNeely J, et al. Small, dense LDL and elevated apolipoprotein B are the common characteristics for the three major

- lipid phenotypes of familial combined hyperlipidemia. *Arterioscl Tromb Vasc Biol*. 2003;23:1289-94.
56. Goldberg IJ. Clinical review 124: Diabetic dyslipidemia: causes and consequences. *J Clin Endocrinol Metab*. 2001;86:965-71.
57. Pauciullo P, Gentile M, Marotta G, et al. Small dense low-density lipoprotein in familial combined hyperlipidemia: Independent of metabolic syndrome and related to history of cardiovascular events. *Atherosclerosis*. 2008;203:320-24.
58. Banegas JR, Rodriguez-Artalejo F. El problema de la hipertensión arterial en España. *Rev Clin Esp*. 2002;202:12-15
59. Banegas JR, Segura J, Ruilope LM, et al. Blood pressure control and physician management of hypertension in hospital hypertension units in Spain. *Hypertension*. 2004;43: 338-1344.
60. Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, et al. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada and the United States. *JAMA*. 2003;289:240-42.
61. Egan BM, Julius S. Prehypertension: risk stratification and management considerations. *Curr Hypertens Rep*. 2008;10:359-66.
62. Stamler R, Stamler J, Riedlinger WF, et al. Weight and blood pressure: findings in hypertension screening of 1 million Americans. *JAMA*. 1978;240:1607-10.
63. Poirier P, Giles TD, Bray GA, et al. Obesity and cardiovascular disease: pathophysiology, evaluation and effect of weight loss. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:968-76.
64. Dobrin PB. Mechanical factors associated with the development of intimal and medial thickening in vein grafts subjected to arterial pressure: a model of arteries exposed to hypertension. *Hypertension*. 1995;26:38-43.

65. Gibbons GH, Pratt RE, Dzau VJ. Vascular smooth muscle cell hypertrophy vs hyperplasia: autocrine transforming growth factor-beta 1 expression determines growth response to angiotensin II. *J Clin Invest*. 1992;90:1419-24.
66. Griendling KK, Alexander RW. Oxidative stress and cardiovascular disease. *Circulation*. 1997;16:831-42.
67. Lacy F, O'Connor DT, Schmidt-Schönbein GW. Plasma hydrogen peroxide production in hypertensives and normotensives subjects at genetic risk of hypertension. *J Hypertens*. 1998;16:291-303.
68. Zimmet P, Alberti KG, Shaw J. Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature*. 2001;414:782-87.
69. Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ. The metabolic syndrome. *Lancet*. 2005;365:1415-28.
70. Baker JL, Olsen LW, Sorensen TI. Childhood body-mass index and the risk of coronary heart disease in adulthood. *N Engl J Med*. 2007;357:2329-37.
71. Villar F, Banegas JR, Donado JM, et al. Informe SEA. Las enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo en España: hechos y cifras. 2007.
72. Serra L, Ribas L, Aranceta J, et al. Obesidad infantil y juvenil en España. Resultados del estudio enKid (1998-2000). *Med Clin (Barc)*. 2003;121:725-32.
73. Instituto Nacional de Estadística. INE base. Disponible en: <http://www.ine.es/inebase/>. 2006.
74. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J, for the IDF Epidemiology task Force Consensus Group. The Metabolic Syndrome - a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1821-30.
75. Merino-Ibarra E, Cenarro A, Martin P, et al. [Sensitivity and specificity of metabolic syndrome criteria for insulin resistance diagnosis in Spanish population]. *Med Clin (Barc)*. 2007;128:168-71.

76. Services. UDoHaH. The health consequences of smoking: a report on the surgeon general. In. Atlanta. GA.
77. Centro de investigaciones sociológicas. Tabaquismo y nueva normativa antitabaco, 2006. Estudio 2665. In. Madrid: CIS; 2006.
78. Banegas JR, Diez L, González J, Villar F,, F. R-A. La mortalidad atribuible al tabaquismo comienza a descender en España. *Med Clin (Barc)* 2005;124:769-71.
79. Kabagambe EK, Ordovas JM, Tsai MY, et al. Smoking, inflammatory patterns and postprandial hypertriglyceridemia. *Atherosclerosis*. 2009;203:633-39.
80. Glantz SA, Parmley WW. Passive smoking and heart disease. Mechanisms and risk. *JAMA*. 1995;273:1047-53.
81. Bazzano LA, He J, Muntner P, et al. Relationship between cigarette smoking and novel risk factors for cardiovascular disease in the United States. *Ann Intern Med*. 2003;138 891-97.
82. Francès C, Boismic S, Hartmann DJ, et al. Changes in the elastic tissue of the non-sun-exposed skin of cigarette smokers. *Br J Dermatol*. 1991;125:43-47.
83. Weitz JI, Crowley KA, Landman SL, et al. Increased neutrophil elastase activity in cigarette smokers. *Ann Intern Med*. 1987;107: 680-82.
84. 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: 1111-15.
85. Tracy RE, Toca VT, Strong JP, et al. Relationship of raised atherosclerotic lesions to fatty streaks in cigarette smokers. *Atherosclerosis*. 1981;38:347-57.
86. Zieske AW, McMahan CA, McGill Jr HC, et al. Smoking is associated with advanced coronary atherosclerosis in youth. *Atherosclerosis*. 2005;180:87-92.

87. American diabetes association. Report of the Expert Committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1997;20:1183-97.
88. Weiss R, Dziura J, Burgert TS, et al. Obesity and the metabolic syndrome in children and adolescents. *N Engl J Med*. 2004;350:2362-74.
89. Mazzone T, Chait A, Plutzky J. Cardiovascular disease risk in type 2 diabetes mellitus: insights from mechanistic studies. *Lancet*. 2008;371:1800-09.
90. Executive Summary of the Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-97.
91. Patel A, MacMahon S, Chalmers J, et al. ADVANCE Collaborative Group. Intensive blood glucose control and vascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2008;358:2560-72.
92. Cholesterol Treatment Trialists (CTT) Collaborators (2008). Efficacy of cholesterol-lowering therapy in 18686 people with diabetes in 14 randomised trials of statins: a meta-analysis. *Lancet* 2008;371:117-25.
93. Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cell. *Circulation*. 2000;102:2165-68.
94. Makita S, Nakamura M, Hiramori K. The association of C- reactive protein levels with carotid intima-media complex thickness and plaque formation in the general population. *Stroke*. 2005;36:2138-42.
95. Arner P. The adipocyte in insulin resistance: key molecules and the impact of the thiazolidinediones. *Trends Endocrinol Metab*. 2003;14:137-45.

96. Armstrong EJ, Morrow DA, Sabatini MS. Inflammatory biomarkers in acute coronary syndromes: Part-II: Acute-Phase reactants and biomarkers of endothelial cell activation. *Circulation*. 2006;113: 152-55.
97. Liuzzo G, Biasucci LM, Rebuzzi AG, et al. Plasma protein acute-phase response in unstable angina is not induced by ischemic injury. *Circulation*. 1996;94:2373-80.
98. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, et al. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA*. 2007; 297:611-19.
99. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, et al. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2004;350:1387-97.
100. Rodríguez F, Banegas J, Guallar-Castillón P. La mortalidad cardiovascular disminuye pero los muertos aumentan. *Clin Invest Arteriosclerosis*. 2001;13:68-69.
101. Keys A. Seven countries. A multivariate study of death and coronary heart disease. *Cambridge. Harvard University Press*. 1980.
102. López Bescós L, Cosín J, Elosúa R, et al. Prevalencia de angina y factores de riesgo cardiovascular en las diferentes comunidades autónomas de España: estudio PANES. *Rev Esp Cardiol*. 1999; 52:1045-56.
103. Casado D. Los efectos del envejecimiento demográfico sobre el gasto sanitario: mitos y realidades. *Gac Sanit*. 2001;15:154-63.
104. Caicoya M, Rodríguez T, Lasheras C, et al. Incidencia de enfermedad cerebrovascular en Asturias: 1990-1991. *Rev Neurol*. 1996;24:806-11.
105. Medrano MJ, Boix R, Cerrato E, et al. Incidencia y prevalencia de enfermedad cerebrovascular en España: revisión sistemática de la literatura. *Rev Esp Salud Pública*. 2006;80:5-15.

106. Muñoz J, Crespo M, Castro A. Epidemiología e importancia del grado de adecuación a las guías de práctica clínica. *Rev Esp Cardiol*. 2006; 6 :2-8
107. Hirsch AT, Haskal ZJ, Hertzler NR, et al. ACC/AHA 2005 Practice Guidelines for the management of patients with peripheral arterial disease (lower extremity, renal, mesenteric, and abdominal aortic). *Circulation*. 2006;113:463-654.
108. Mostaza JM, Vicente J, Cairols M, et al. Índice tobillo-brazo y riesgo cardiovascular. *Med Clin (Barc)*. 2003;121:68-73.
109. Meijer WT, Hoes AW, Rutgers D, Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Peripheral arterial disease in the elderly: The Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:185-92.
110. Rader DJ, Cohen J, Hobbs HH. Monogenic hypercholesterolemia: new insights in pathogenesis and treatment. *J Clin Invest*. 2003;111:1795-803.
111. Civeira F. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:55-68.
112. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hipercolesterolemia. In: Scriver CR BA, ed. *The metabolic and molecular basis of inherited disorders*. New York: McGraw Hill;2001.
113. Goldstein JL, Brown MS. Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity associated with overproduction of cholesterol. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1973;70: 2804-08.
114. Tejedor D, Castillo S, Mozas P, et al. Reliable low-density DNA array based on allele-specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem*. 2005;51:1137-44.

115. Pocovi M, Civeira F, Alonso R, et al. Familial hypercholesterolemia in Spain: case-finding program, clinical and genetic aspects. *Semin Vasc Med.* 2004 Feb; 4: 67-74.
116. Alonso R, Castillo S, Civeira F, et al. [Heterozygous familial hypercholesterolemia in Spain. Description of 819 non related cases]. *Med Clin (Barc).* 2002;118:487-92.
117. Bujo H, Takahashi K, Saito Y, et al. Clinical features of familial hypercholesterolemia in Japan in a database from 1996-1998 by the research committee of the ministry of health, labour and welfare of Japan. *J Atheroscler Thromb.* 2004;11:146-51.
118. Civeira F, Ros E, Jarauta E, et al. Comparison of genetic versus clinical diagnosis in familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol.* 2008; 102: 1187-93.
119. Pimstone SN, Sun XM, du Souich C, et al. Phenotypic variation in heterozygous familial hypercholesterolemia: a comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China or Canada. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1998; 18: 309-15.
120. Ferrières J, Lambert J, Lussier-Cacan S, et al. Coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia patients with the same LDL receptor gene mutation. *Circulation* 1995; 92:290-295.
121. Kruth HS. Lipid deposition in human tendon xanthoma. *Am J Pathol.* 1985;121:311-5.
122. Descamps OS, Leysen X, Van Leuven F, et al. The use of Achilles tendon ultrasonography for the diagnosis of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2001;157:514-18.
123. Junyent M GR, Zambón D, Núñez I, et al. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias. *Atheroscl Throm Vasc Biol.* 2005;10:2203-08.

124. Marais AD, Firth JC, Blom DJ. Homozygous familial hypercholesterolemia and its management. *Semin Vasc Med.* 2004;4:43-50.
125. WHO. Human Genetic Program. Familial hypercholesterolemia, report of a WHO consultation. WHO/HGN/FH/CONS/98.7 Paris. October 1997.
126. Sauvage Nolting PR, Defesche JC, Buirma RJ, et al. Prevalence and significance of cardiovascular risk factors in a large cohort of patients with familial hypercholesterolaemia. *J Inter Med.* 2003;253:161-68.
127. Scientific Steering Committee on behalf of the Simon Broome Register Group. Mortality in treated heterozygous Familial Hypercholesterolemia: implications for clinical management. *Atherosclerosis.* 1999;142:105-15.
128. Hutter CM, Austin MA, Humphries SE. Familial hypercholesterolemia, peripheral arterial disease, and stroke: a HuGE minireview. *Am J Epidemiol.* 2004;160:430-35.
129. Neil W, Seagroatt V, Betteridge DJ, et al. Established and emerging coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Heart.* 2004;90:1431-37.
130. Wiegman A, Rodenburg J, de Jongh S, et al. Family history and cardiovascular risk in familial hypercholesterolemia: data in more than 1000 children. *Circulation.* 2003; 107:1473-78.
131. Alonso R, Mata N, Castillo S et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis* 2008:315-21
132. Abifadel M, Varret M, Rabés JP, et al. Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 2003;34:154-56.
133. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH jr, et al. Sequence variations in PCSK9, low cLDL and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med.* 2006;354:1264-72.

134. Garcia CK, Wilund K, Arca M, et al. Autosomal recessive hypercholesterolemia caused by mutation in putative LDL receptor adaptor protein. *Science*. 2001;292:1394-08.
135. Holmes DT, Schick BA, Humphries KH, et al. Lipoprotein(a) is an independent risk factor for cardiovascular disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Clin Chem*. 2005;51:2067-73.
136. Kamstrup PR, Benn M, Tybjaerg-Hansen A, et al. Extreme Lipoprotein(a) Levels and Risk of Myocardial Infarction in the General Population The Copenhagen City Heart Study. *Circulation*. 2008;117:176-84.
137. Merino-Ibarra E, Puzo J, Jarauta E, et al. Hyperlipoproteinaemia(a) is a common cause of autosomal dominant hypercholesterolaemia. *J Inherit Metab Dis*. 2007;30:970-77.
138. Joven J, Simo JM, Vilella E, et al. Lipoprotein (a) and the significance of the association between platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and the risk of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 1998;140:155-59.
139. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, et al. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest*. 1973;52:1544-68.
140. Genest JJ Jr., Martin-Munley SS, McNamara JR, et al. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation*. 1992; 85: 2025-33.
141. McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, et al. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia:a 20-year prospective study. *Atherosclerosis* 2001;159:471-81

142. Veerkamp MJ, de Graaf J, Hendriks JC, et al. Nomogram to diagnose familial combined hyperlipidemia on the basis of results of a 5-year follow-up study. *Circulation*. 2004; 109: 2980-85.
143. De Graaf J, van der Vleuten G, Stalenhoef AF. Diagnostic criteria in relation to the pathogenesis of familial combined hyperlipidemia. *Semin Vasc Med*. 2004;4:229-40.
144. Veerkamp MJ, de Graaf J, Bredie SJ, et al. Diagnosis of familial combined hyperlipidemia based on lipid phenotype expression in 32 families: results of a 5-year follow-up study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:274-82.
145. Austin MA, McKnight B, Edwards KL, et al. Cardiovascular Disease Mortality in Familial Forms of Hypertriglyceridemia: A 20-Year Prospective Study. *Circulation*. 2000;101:2777-82.
146. Hopkins PN, Heiss G, Ellison RC, et al. Coronary artery disease risk in familial combined hyperlipidemia and familial hypertriglyceridemia; a case-control comparison from the National Heart, lung and Blood Institute Family Heart Study. *Circulation*. 2003; 108:519-23.
147. Wilson PW, Castelli WP, Kannel WB. Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol*. 1987;59:91-94.
148. Assmann G, Schulte H. The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease. *Am Heart J*. 1988;116:1713-24.
149. Magnus P, Beaglehole R. The real contribution of the major risk factors to the coronary epidemics: time to end the "only-50%" myth. *Arch Intern Med*. 2001;161:2657-60.
150. Myerburg RJ, Interian A Jr., Mitrani RM, et al. Frequency of sudden cardiac death and profiles of risk. *Am J Cardiol*. 1997; 80: 10-19.

151. Feinstein SB, Voci P, Pizzuto F. Noninvasive surrogate markers of atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2002; 89:31-44.
152. De groot E, Hovingh GK, Wiegman A, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate for atherosclerosis. *Circulation.* 2004; 109: 33-38.
153. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther.* 2001;69:89-95.
154. Tardif JC, Heinson T, Orloff D, et al. Vascular biomarkers and surrogates in cardiovascular disease. *Circulation.* 2006; 113: 2936-42.
155. Agatston AS, Janowitz WR, Kaplan G, et al. Ultrafast computed tomography-detected coronary calcium reflects the angiographic extent of coronary arterial atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1994;74: 1272-74.
156. Raggi P, Davidson M, Callister TQ, et al. Aggressive versus moderate lipid-lowering therapy in hypercholesterolemic postmenopausal women: Beyond Endorsed Lipid Lowering with EBT Scanning (BELLES). *Circulation.* 2005;11:563-71.
157. Miller JM, Rochitte CE, Dewey M, et al. Diagnostic performance of coronary angiography by 64-rowCT. *N Engl J Med.* 2008;359:2324-36
158. Langer HF, Haubner R, Pichler BJ, et al. Radionuclide imaging: a molecular key to the atherosclerotic plaque. *J Am Coll Cardiol.* 2008;52:01-12.
159. Teragawa H, Ueda K, Matsuda K, et al. Relationship between endothelial function in the coronary and brachial arteries. *Clin Cardiol.* 2005;28:460-66.
160. Anderson TJ, Gerhard MD, Meredith IT, et al. Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1995;75:71-74.
161. Schachinger V, Britten MB, Zeiher AM. Prognostic impact of coronary vasodilator dysfunction on adverse long-term outcome of coronary heart disease. *Circulation.* 2000;101:1899-906.

162. Suwaidi JA, Hamasaki S, Higano ST, et al. Long-term follow-up of patients with mild coronary artery disease and endothelial dysfunction. *Circulation*. 2000;101:948-54.
163. Treasure CB, Klein JL, Weintraub WS, et al. Beneficial effects of cholesterol-lowering therapy on the coronary endothelium in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*. 1995;332:481-87.
164. Marchesi S, Lupattelli G, Siepi D, et al. Short-term atorvastatin treatment improves endothelial function in hypercholesterolemic women. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2000;36:617-21.
165. Pignoli P, Tremoli E, Poli A, et al. Intimal plus medial thickness of the arterial wall: a direct measurement with ultrasound imaging. *Circulation*. 1986;74:1399-406.
166. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, et al. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115:459-67.
167. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146:483-94.
168. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, et al. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction. The Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432-37.
169. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, et al. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006; 37: 87-92.

170. Salonen JT, Salonen R. Ultrasound B-mode imaging in observational studies of atherosclerotic progression. *Circulation*. 1993;87:56-65.
171. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.
172. Rosvall M, Janzon L, Berglund G, et al. Incident coronary events and case fatality in relation to common carotid intima-media thickness. *J Intern Med*. 2005;257:430-37.
173. Bots ML, Hofman A, De Jong PT, et al. Common carotid intima-media thickness as an indicator of atherosclerosis at other sites of the carotid artery. The Rotterdam Study. *Ann Epidemiol*. 1996;6:147-53.
174. Hollander M, Bots ML, Del Sol AI, et al. Carotid plaques increase the risk of stroke and subtypes of cerebral infarction in asymptomatic elderly: the Rotterdam study. *Circulation*. 2002;105:2872-77.
175. Chambless LE, Folsom AR, Clegg LX, et al. Carotid wall thickness is predictive of incident clinical stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Am J Epidemiol*. 2000;151:478-87.
176. Kitamura A, Iso H, Imano H, et al. Carotid intima-media thickness and plaque characteristics as a risk factor for stroke in Japanese elderly men. *Stroke*. 2004;35:2788-94.
177. Allan PL, Mowbray PI, Lee AJ, et al. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study. *Stroke*. 1997;28:348-53.
178. Burke GL, Evans GW, Riley WA, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke*. 1995;26:386-

179. Dobs AS, Nieto FJ, Szklo M, et al. Risk factors for popliteal and carotid wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol.* 1999;150:1055-67.
180. Berenson GS. Childhood risk factors predict adult risk associated with subclinical cardiovascular disease. The Bogalusa Heart Study. *Am J Cardiol* 2002;90:3-7.
181. Heiss G, Sharrett AR, Barnes R, et al. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in the ARIC study. *Am J Epidemiol.* 1991;134:250-56.
182. Bots ML, Hofman A, de Bruyn AM, et al. Isolated systolic hypertension and vessel wall thickness of the carotid artery. The Rotterdam Elderly Study. *Arterioscler Thromb.* 1993;13: 64-69.
183. Wagenknecht LE, D'Agostino RB, Jr., Haffner SM, et al. Impaired glucose tolerance, type 2 diabetes, and carotid wall thickness: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes Care.* 1998;21:1812-18.
184. Folsom AR, Eckfeldt JH, Weitzman S, et al. Relation of carotid artery wall thickness to diabetes mellitus, fasting glucose and insulin, body size, and physical activity. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study Investigators. *Stroke.* 1994;25:66-73.
185. Yamasaki Y, Kodama M, Nishizawa H, et al. Carotid intima-media thickness in Japanese type 2 diabetic subjects: predictors of progression and relationship with incident coronary heart disease. *Diabetes Care.* 2000;23:1310-15.
186. Hanefeld M, Chiasson JL, Koehler C, et al. Acarbose slows progression of intima-media thickness of the carotid arteries in subjects with impaired glucose tolerance. *Stroke.* 2004;35:1073-78.

187. Katakami N, Yamasaki Y, Hayaishi-Okano R, et al. Metformin or gliclazide, rather than glibenclamide, attenuate progression of carotid intima-media thickness in subjects with type 2 diabetes. *Diabetologia*. 2004;47:1906-13.
188. Sidhu JS, Kaposzta Z, Markus HS, et al. Effect of rosiglitazone on common carotid intima-media thickness progression in coronary artery disease patients without diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24:930-34.
189. Markus RA, Mack WJ, Azen SP, et al. Influence of lifestyle modification on atherosclerotic progression determined by ultrasonographic change in the common carotid intima-media thickness. *Am J Clin Nutr*. 1997;65:1000-04.
190. Howard G, Burke GL, Szklo M, et al. Active and passive smoking are associated with increased carotid wall thickness. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Arch Intern Med* 1994;154:1277-82.
191. Diez-Roux AV, Nieto FJ, Comstock GW, Howard G, Szklo M. The relationship of active and passive smoking to carotid atherosclerosis 12-14 years later. *Prev Med*. 1995;24:48-55.
192. Moskau S, Golla A, Grothe C, Boes M, Pohl C, Klockgether T. Heritability of carotid artery atherosclerotic lesions: an ultrasound study in 154 families. *Stroke*. 2005;36:5-8.
193. Duggirala R, Gonzalez Villalpando C, O'Leary DH, Stern MP, Blangero J. Genetic basis of variation in carotid artery wall thickness. *Stroke*. 1996;27:833-37.
194. Bots ML, Baldassarre D, Simon A, et al. Carotid intima-media thickness and coronary atherosclerosis: weak or strong relations? *Eur heart J*. 2007;28:398-406.

195. Salonen R, Salonen JT. Progression of carotid atherosclerosis and its determinants: a population-based ultrasonography study. *Atherosclerosis*. 1990;81:33-40.
196. Mackinnon AD, Jerrard-Dunne P, Sitzer M, et al. Rates and determinants of site-specific progression of carotid artery intima-media thickness: the carotid atherosclerosis progression study. *Stroke*. 2004;35:2150-54.
197. Van der Meer IM, Iglesias del Sol A, Hak AE, et al. Risk factors for progression of atherosclerosis measured at multiple sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. *Stroke*. 2003;34:2374-79.
198. Stein EA. Additional lipid lowering trials using surrogate measurements of atherosclerosis by carotid intima-media thickness: more clarity or confusion? *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:2206-09.
199. Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrand J. Intima-media thickness after cholesterol lowering in familial hypercholesterolaemia. A three-year ultrasound study of common carotid and femoral arteries. *Atherosclerosis*. 1995;117:225-36.
200. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, et al. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001;357:577-81.
201. Fleg JL, Mete M, Howard BV, et al. Effect of statins alone versus statins plus ezetimibe on carotid atherosclerosis in type 2 diabetes: the SANDS (Stop Atherosclerosis in Native Diabetics Study) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:2198-205.
202. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, et al. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1431-43.

-
203. Kastelein JJ vLS, Burgess L, Evans GW, Kuivenhoven JA, Barter PJ, Revkin JH, Grobbee DE, Riley WA, Shear CL, Duggan WT, Bots ML. Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2007;356:1620-30.
204. Hiukka A, Westerbacka J, Leinonen ES, et al. Long-term effects of fenofibrate on carotid intima-media thickness and augmentation index in subjects with type 2 diabetes mellitus. *J Am Coll Cardiol*. 2008;52:2190-97.
205. Meuwese MC, Stroes ES, Hazen SL, et al. Serum myeloperoxidase levels are associated with the future risk of coronary artery disease in apparently healthy individuals: the EPIC-Norfolk Prospective Population Study. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:159-65.
206. Crouse JR, 3rd, Raichlen JS, Riley WA, et al. Effect of rosuvastatin on progression of carotid intima-media thickness in low-risk individuals with subclinical atherosclerosis: the METEOR Trial. *JAMA*. 2007;297:1344-53.
207. Taylor AJ, Lee HJ, Sullenberger LE. The effect of 24 months of combination statin and extended-release niacin on carotid intima-media thickness: ARBITER 3. *Curr Med Res Opin*. 2006;22:2243-50.
208. Mack WJ, LaBree L, Liu C, et al. Correlations between measures of atherosclerosis change using carotid ultrasonography and coronary angiography. *Atherosclerosis* 2000;150:371-79.
209. Wiklund O, Hulthe J, Wikstrand J, Schmidt C, Olofsson SO, Bondjers G. Effect of controlled release/extended release metoprolol on carotid intima-media thickness in patients with hypercholesterolemia: a 3-year randomized study. *Stroke*. 2002;33:572-77.
210. Wang JG, Staessen JA, Li Y, et al. Carotid intima-media thickness and antihypertensive treatment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Stroke*. 2006;37:1933-40.

211. Descamps OS, Gilbeau JP, Leysen X, et al. Impact of genetic defects on atherosclerosis in patients suspected of familial hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest.* 2001;31:958-65.
212. Wittekoek ME, de Groot E, Prins MH, et al. Differences in intima-media thickness in the carotid and femoral arteries in familial hypercholesterolemic heterozygotes with and without clinical manifestations of cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 1999;146:271-79.
213. Taira K, Bujo H, Kobayashi J, et al. Positive family history for coronary heart disease and 'midband lipoproteins' are potential risk factors of carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis.* 2002;160:391-97.
214. Junyent M, Cofán M, Núñez I, et al. Influence of HDL cholesterol on preclinical carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1107-13.
215. Ylitalo K, Syväne M, Salonen R, et al. Carotid artery intima-media thickness in Finnish families with familial combined hyperlipidemia. *Atherosclerosis.* 2002;162:171-78.
216. Keulen ETP KM, Schaper NC, Hoeks APG, de Bruin T. Increased Intima-Media Thickness in Familial Combined Hyperlipidemia Associated With Apolipoprotein B. *Atheroscler Thromb Vasc Biol.* 2002;22:283-88.
217. Halenka M, Vavrkova H, Hutrya M, et al. Detection of early atherosclerosis using the ultrasound parameter of the intima-media thickness of the common carotid artery in families with familial combined hyperlipidemia. *Int Angiol.* 2004;23:230-37.
218. Junyent M, Zambon D, Gilabert R, et al. Carotid atherosclerosis in familial combined hyperlipidemia associated with the APOB/APOA-I ratio. *Atherosclerosis.* 2008;197:740-46.

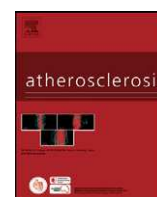
219. Avest E HS, Bredie SJH, Stalenhoef A F, et al. Remnant particles are the major determinant of an increased intima media thickness in patients with familial combined hyperlipidemia (FCH). *Atherosclerosis*. 2007;191:220-26.
220. Liu ML, Ylitalo K, Nuotio I, et al. Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and susceptibility of low-density lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Stroke* 2002;33:1255-60.
221. Homma S, Hirose N, Ishida H, et al. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by b-mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke*. 2001;32:830-35.
222. Bots ML, Visseren FL, Evans GW, et al. Torcetrapib and carotid intima-media thickness in mixed dyslipidaemia (RADIANCE 2 study): a randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2007; 370:153-60.
223. Wenham PR, Price WH, Blundell G. Apolipoprotein E genotyping by one-stage PCR. *Lancet*. 1991;337:1158–59.
224. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Lab*. 2002;48:171–80.
225. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, et al. Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (diet and risk of cardiovascular disease in Spain) study. DRECE study group. *Med Clin (Barc)*. 1999;113:730-35.

◆.....ANEXOS

●..... Artículo 1

Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de Groot E, Cenarro A, Nuñez A, Coll B, Masana L, Ros E, Civeira F. **Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia**

Publicado en *Atherosclerosis* 2009; 204: 345–347



Letter to the Editor

Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia

ARTICLE INFO

Keywords:

Familial hypercholesterolemia

Tendon xanthomas

Cardiovascular risk

Carotid intima-media thickness

Familial hypercholesterolemia (FH) is a common disease characterized by elevated plasma levels of total and LDL cholesterol, a high incidence of coronary heart disease (CHD) and extravascular deposits of cholesterol, such as tendon xanthomas [1]. We showed that the clinical detection of tendon xanthomas is an important risk factor for premature CHD [2]. This association has been confirmed more recently [3] and it has clinical implications because tendon xanthomas could be considered not only a diagnostic feature of FH, but also a prognostic factor, which could modify treatment objectives. However, if Achilles tendon (AT) sonography adds meaningful clinical information on CHD risk in FH has not been established. For this purpose, we have used high-resolution sonographic measurement of AT thickness and carotid intima-media thickness (cIMT) in a large group of genetically defined heterozygous FH.

From October 2005 to April 2008, all consecutive FH subjects from three Spanish lipid clinics in whom a molecular diagnosis was obtained were offered sonographic studies of AT and carotid arteries. The local review boards approved the study protocol and all subjects provided written informed consent. All subjects were assessed for standard cardiovascular risk factors and history of statin use (Supplementary Table 1). The screening of mutations in the LDLR and APOB genes was performed with Lipochip® (Progenika-Biopharma, Spain) [4]. Samples in which the microarray does not uncover a genetic defect undergo further analysis of large rearrangement by quantitative fluorescence-based multiplex PCR and, if negative, sequencing of the promoter region, the 18 exons and flanking intronic regions of LDLR.

Standardized equipment and operating procedures for the three centers were used for AT thickness and cIMT measurements, as previously described [5]. The image analyst was trained, certified by an outside body prior to commencement of the studies (AMC Vascular Imaging, Amsterdam, The Netherlands) and blinded to subjects' clinical information. For AT, the variables of interest were mean and maximum thickness bilaterally and, for cIMT, median and maximum values at the common carotid artery, carotid bifurcations and internal carotid arteries of each side. AT maximum thickness thresholds for a positive diagnosis of xanthoma were defined as 5.3 and 5.7 mm in men <45 and >45 years, and 4.8 and 4.9 mm in women <50 and >50 years, respectively [6]. Multivariable lin-

ear regression was used to determine independent associations of AT thickness and cIMT. Because of a skewed distribution, AT thickness and IMT values were transformed into their natural logarithm (Ln) for analysis. The independent variables used in this model were sex, age, smoking, hypertension, duration of statin treatment, body mass index (BMI), LDL cholesterol, HDL cholesterol, triglycerides, lipoprotein(a) and glucose. For maximum IMT, maximum AT thickness was introduced as covariate in a second model. The Kruskal–Wallis one-way analysis of variance by ranks was used for testing equality of carotid IMT medians among AT thickness groups.

The molecularly defined FH subjects were 178 men and 170 women, with ages ranging from 18 to 81 years. Of them, 33 patients (22 men and 11 women) had a history of early-onset CHD. AT xanthomas were detected by physical examination in 96 (27.6%) subjects and by sonography in 197 (56.6%) subjects ($P<0.001$). Normal tendons were present in 137 (39.4%) subjects with both methods. When AT thickness by sonography was <6.0 mm, xanthomas were seldom detected clinically, but when AT thickness was >6.9 mm the clinical detection rates were very high (Supplementary Fig. 1). The mean AT thickness of the 33 FH subjects with a history of CHD (7.17 ± 2.77 mm) was significantly different ($P=0.011$) from that of the 318 FH subjects without CHD (5.84 ± 1.94 mm). The differences remained significantly different ($P=0.024$) after adjustment for sex, age, LDL cholesterol and duration of statin treatment. All AT thickness and cIMT measurements were higher in men than in women (Supplementary Table 2) and they were directly correlated (Supplementary Table 3). The highest correlation was between maximum AT thickness and maximum cIMT ($\rho=0.298$, $P=0.000$). In the multivariable linear regression using maximum AT thickness and cIMT as independent variables, the covariates that were independently associated with maximum AT thickness were the LDL cholesterol level, gender and age, in this order, explaining together 19% of its variability. Corresponding covariates for maximum cIMT were age, gender, smoking, and LDL cholesterol, in this order. When maximum AT thickness was introduced in the model, the adjusted R^2 increased from 0.395 to 0.407 after adjustment for major risk factors (Supplementary Table 4). We compared the cIMT measures in three subgroups of men and women: (1) Subjects with normal AT at both clinical examination and sonography. (2) Subjects

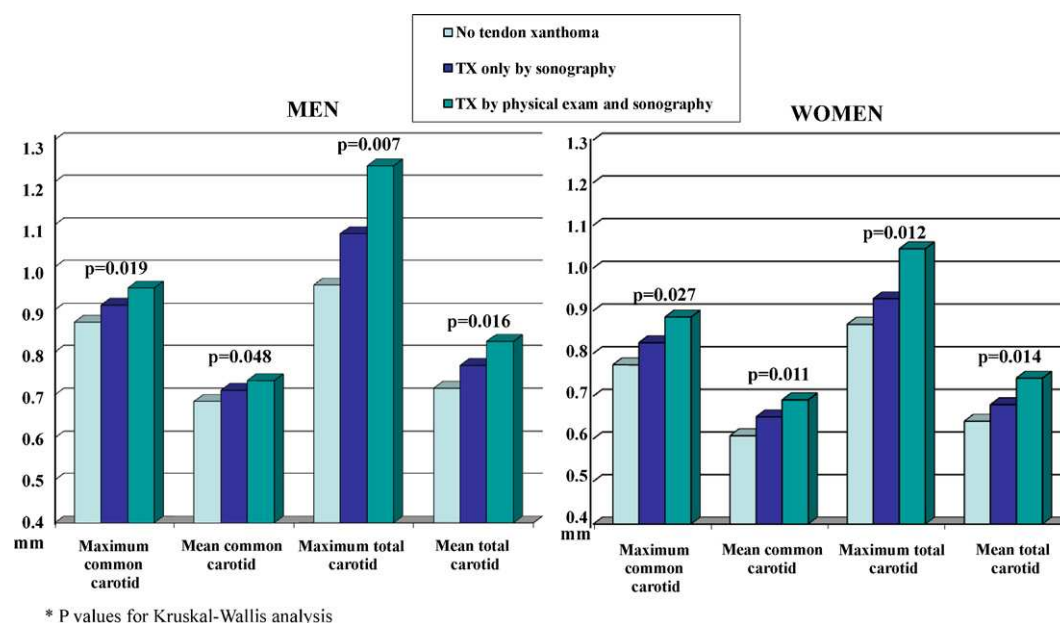


Fig. 1. Age-adjusted carotid IMT (mm) according to method of detection of Achilles tendon xanthoma by gender (P values for Kruskal–Wallis analysis).

with normal AT at physical examination that was sonographically enlarged. (3) Subjects with concomitant AT xanthoma at physical examination and enlarged AT at sonography. As shown in Fig. 1, subjects of both genders with normal AT when explored with the two methods had the lowest IMT values, while those whose AT was enlarged at both physical and sonographic examination had the highest IMT. Interestingly, the carotid IMT measurements were intermediate, when AT xanthomas were diagnosed only by sonography, and the differences remained significant with respect to the other two groups even after adjusting for gender and age.

Our results show that the sonographic measurement of AT thickness for the diagnosis of xanthoma identifies a subpopulation of FH with mild AT enlargement that goes unrecognized at physical examination and has more advanced carotid atherosclerosis. The male gender and high LDL cholesterol are main factors associated with both AT enlargement and carotid atherosclerosis in FH. We show that AT thickness is directly associated with carotid IMT independently of other risk factors. It follows that the simple measurement of AT thickness by sonography can help identify FH subjects at higher CHD risk. In proof, the FH patients with prior CHD in our study had significantly higher adjusted AT thickness than those free of CHD. Thus, FH subjects with clinical xanthomas or thickened AT by sonography are candidates to aggressive lipid lowering treatment.

Conflict of interest

None declared.

Acknowledgments

Grants from the Spanish Ministry of Health FISS PI06/0365, RTIC C06/01 (RECAVA), the Spanish Ministry of Education and Science (SAF2005-07042) and Merck Sharp & Dohme Spain, supported this work. CIBEROBN and CIBERDEM are initiatives of ISCIII, Spain.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.040.

References

- [1] Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial hypercholesterolemia. In: Scriver CR, Baudet AL, Sly WS, Valle D, editors. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York: McGraw-Hill; 2001. p. 2863–913.
- [2] Civeira F, Castillo S, Alonso R, Meriño-Ibarra E, Cenarro A, Artied M, et al. Tendon xanthomas in familial hypercholesterolemia are associated with cardiovascular risk independently of the low-density lipoprotein receptor gene mutation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:1960–5.
- [3] Kiortsis DN, Argyropoulou MI, Xydis V, Tsouli SG, Elisaf MS. Correlation of Achilles tendon thickness evaluated by ultrasonography with carotid intima-media thickness in patients with familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2006;186:228–9.
- [4] Tejedor D, Castillo S, Mozas P, Jiménez E, López M, Tejedor MT, et al. Reliable low-density DNA array based on allele specific probes for detection of 118 mutations causing familial hypercholesterolemia. *Clin Chem* 2005;51:1137–44.
- [5] de Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart J-C, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation* 2004;109(Suppl 1):III33–8.
- [6] Junyent M, Gilabert R, Zambón D, Núñez I, Vela M, Civeira F, et al. The use of Achilles tendon sonography to distinguish familial hypercholesterolemia from other genetic dyslipidemias. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005;25:2203–8.

Estibaliz Jarauta^a

Mireia Junyent^b

Rosa Gilabert^b

Nuria Plana^c

Rocio Mateo-Gallego^a

Eric de Groot^d

Ana Cenarro^a

Isabel Núñez^b

Blay Coll^c

Luis Masana^c

Emilio Ros^b

Fernando Civeira^{a,*}

^a Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Avda. Isabel La Católica 1-3, 50009 Zaragoza, Spain

^b Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona and Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Spain

^c Hospital Universitari Sant Joan, Universitat Rovira i Virgili, Reus, and Ciber de Diabetes y Enfermedades Metabólicas (CIBERDEM), ISCIII, Spain

^d Image Vascular Center, Amsterdam Medical Center, Amsterdam, The Netherlands

* Corresponding author. Tel.: +34 976765500; fax: +34 976369985.
E-mail address: civeira@unizar.es (F. Civeira)

28 September 2008

Available online 17 October 2008

● Artículo 2

Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P y Civeira F.

**Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo
cardiovascular Carotid intima-media thickness in subjects without
cardiovascular risk factors**

.

Aceptado en *Revista Española de Cardiología*

Elsevier Editorial System(tm) for Revista Espanola de Cardiologia
Manuscript Draft

Manuscript Number:

Title: Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular Carotid
intima-media thickness in subjects without cardiovascular risk factors

Article Type: Artículo original / Original article

Section/Category: Técnicas de imagen / Imaging techniques

Keywords: Arterias carótidas. Aterosclerosis. Colesterol. Factores de riesgo. Lipoproteínas de baja
densidad (LDL). Presión arterial

Corresponding Author: Prof Fernando Civeira, M.D., Ph.D.

Corresponding Author's Institution: Hospital Universitario Miguel Servet

First Author: Estibaliz Jarauta

Order of Authors: Estibaliz Jarauta; Rocio Mateo-Gallego; Ana Bea; Elena Burillo; Pilar Calmarza;
Fernando Civeira, M.D., Ph.D.

Manuscript Region of Origin: SPAIN

Abstract: a) Introducción y objetivos. El diagnóstico precoz de la enfermedad aterosclerótica es esencial para la prevención eficaz de sus manifestaciones clínicas. El grosor íntima-media de arteria carótida permite la cuantificación del engrosamiento de la pared arterial en fases preclínicas de la enfermedad, pero se desconocen los valores de normalidad en población sin factores de riesgo cardiovascular. El objetivo es describir la distribución de los valores y los factores determinantes del grosor íntima-media carotídeo en población sana y sin factores de riesgo cardiovascular.

b) Métodos. Estudio trasversal de sujetos pertenecientes a población general distribuidos homogéneamente según edad y sexo, sin antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz ni historia personal de factores de riesgo o enfermedad cardiovascular. En todos ellos se obtuvo el grosor íntima-media de la arteria carótida además de los valores de los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

c) Resultados. Se estudiaron 138 sujetos (64 varones y 74 mujeres) entre 20 y 79 años. El límite superior de los valores medios del grosor íntima-media osciló entre 0,59 y 0,95 mm en varones y entre 0,52 y 0,93 mm en mujeres. Los mismos límites para los valores máximos oscilaron entre 0,81 y 1,18 mm en varones y 0,66 y 1,13 mm en mujeres. Los principales factores determinantes del grosor íntima-media fueron edad, sexo masculino, presión arterial sistólica y colesterol LDL.

d) Conclusiones. Los valores obtenidos pueden considerarse los límites de normalidad del engrosamiento de la pared arterial y tomarse como referencia para detectar a aquellos sujetos con mayor riesgo cardiovascular en nuestra población.

Opposed Reviewers:

Título completo y abreviado:

Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular

Carotid intima-media thickness in subjects without cardiovascular risk factors

Autores:

Estibaliz Jarauta^{a,b}, Rocio Mateo-Gallego^{a,b}, Ana Bea^{a,b}, Elena Burillo^b,
Pilar Calmarza^c, Fernando Civeira^{a,b}

Centro:

^aUnidad de Lípidos, ^bLaboratorio de Investigación Molecular y ^cServicio de Bioquímica, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza, Spain

Correspondencia:

Dr. Fernando Civeira

Hospital Universitario Miguel Servet

Avda. Isabel La Católica, 1-3.

50009 Zaragoza, Spain

Phone: 34 976765500. Fax: 34 976369985. E-mail: civeira@unizar.es

Número total de palabras en el manuscrito: 4509

RESUMEN

a) Introducción y objetivos. El diagnóstico precoz de la enfermedad aterosclerótica es esencial para la prevención eficaz de sus manifestaciones clínicas. El grosor íntima-media de arteria carótida permite la cuantificación del engrosamiento de la pared arterial en fases preclínicas de la enfermedad, pero se desconocen los valores de normalidad en población sin factores de riesgo cardiovascular. El objetivo es describir la distribución de los valores y los factores determinantes del grosor íntima-media carotídeo en población sana y sin factores de riesgo cardiovascular.

b) Métodos. Estudio trasversal de sujetos pertenecientes a población general distribuidos homogéneamente según edad y sexo, sin antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular precoz ni historia personal de factores de riesgo o enfermedad cardiovascular. En todos ellos se obtuvo el grosor íntima-media de la arteria carótida además de los valores de los factores de riesgo cardiovascular clásicos.

c) Resultados. Se estudiaron 138 sujetos (64 varones y 74 mujeres) entre 20 y 79 años. El límite superior de los valores medios del grosor íntima-media osciló entre 0,59 y 0,95 mm en varones y entre 0,52 y 0,93 mm en mujeres. Los mismos límites para los valores máximos oscilaron entre 0,81 y 1,18 mm en varones y 0,66 y 1,13 mm en mujeres. Los principales factores determinantes del grosor íntima-media fueron edad, sexo masculino, presión arterial sistólica y colesterol LDL.

d) Conclusiones. Los valores obtenidos pueden considerarse los límites de normalidad del engrosamiento de la pared arterial y tomarse como referencia para detectar a aquellos sujetos con mayor riesgo cardiovascular en nuestra población.

PALABRAS CLAVE. Arterias carótidas, aterosclerosis, colesterol, factores de riesgo, lipoproteínas de baja densidad (LDL), presión arterial.

SUMMARY

a) Introduction and objectives. Early diagnosis of atherosclerosis disease is essential for prevention of cardiovascular disease. The image tools as intima-media thickness allows the direct quantification of wall thickening at preclinical stage of the disease. This variable is directly related with prevalence and incidence of cardiovascular disease. The objectives were the description of the distribution of values of intima-media thickness and main determinants factors of this variable in healthy population without cardiovascular risk factors.

b) Methods. Transversal study including subjects with a homogeneous distribution according to age and sex, without familiar history of early cardiovascular disease or personal history of cardiovascular risk factors. We obtained intima-media thickness of the carotid arteries and values of the traditional cardiovascular risk factors from all the subjects included in the study.

c) Results. We included 138 subjects (64 men and 74 women) whose range age varied from 20 to 79 years old. The upper limit of carotid intima-media thickness values was between 0.55 mm in men younger than 25 years to 0.89 mm in men older than 65 years. In women, carotid values ranged 0.50 to 0.86 mm. The upper limit for maximum values varied from 0.81 mm to 1.18 mm in men and from 0.66 mm to 1.13 mm in women. The risk factors independently associated with intima-media thickness were age, sex male, systolic blood pressure and LDL cholesterol.

d) Conclusions. The values of carotid intima-media thickness obtained in these subjects can be considered to be the normal upper limit reference of subclinical atherosclerosis in general population.

KEY WORDS. Carotid arteries, atherosclerosis, cholesterol, risk factors, low density lipoproteins (LDL), blood pressure.

ABREVIATURAS

Apo: apolipoproteína

BC: bulbo de arteria carótida

CC: carótida común.

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad

CI: carótida interna

cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad

CT: colesterol total

GIMc: grosor íntima-media de arteria carótida

IMC: índice de masa corporal

Lp(a): lipoproteína (a)

PAD: presión arterial diastólica

PAS: presión arterial sistólica

PCR: proteína C reactiva

TG: triglicéridos.

ABBREVIATIONS

Apo: apolipoprotein

BC: bulb of carotid artery

CC: common carotid artery

cHDL: high-density lipoprotein cholesterol

CI: internal carotid artery

cLDL: low-density lipoprotein cholesterol

CT: total cholesterol

GIMc: carotid intima-media thickness

IMC: body mass index

Lp(a): lipoprotein (a)

PAD: diastolic blood pressure

PAS: systolic blood pressure

PCR: C reactive protein

TG: triglycerides

INTRODUCCIÓN

La enfermedad aterosclerótica es la principal causa de mortalidad en España y en el mundo occidental¹. Diferentes estudios prospectivos han definido los principales factores de riesgo asociados a esta enfermedad² y han permitido una aproximación al riesgo cardiovascular de cada sujeto^{3,4}. Sin embargo, la utilización de los datos clínicos y variables bioquímicas incluidos en estas herramientas ha demostrado ser insuficientes para detectar a una importante proporción de sujetos que debutan con enfermedad cardiovascular^{5,6}, ya que existen factores genéticos y ambientales no conocidos que influyen en el riesgo individual de sufrir un evento cardiovascular⁷. Con el objetivo de mejorar la detección de aquellos sujetos con lesiones ateroscleróticas más evolucionadas pero aún asintomáticas y con mayor probabilidad de sufrir un evento cardiovascular se han desarrollado diferentes técnicas que permiten la visualización directa de la pared vascular y un mejor conocimiento de la evolución de la enfermedad, tanto en fase preclínica, como clínica. Dentro de estas técnicas, la medición del grosor íntima-media de la arteria carótida (GIMc) mediante ecografía en modo B permite detectar el engrosamiento de la pared vascular en las fases iniciales de la aterosclerosis mucho antes de que se produzca el compromiso de la luz arterial⁸. Esto es importante ya que la lesión ateromatosa puede no tener repercusión en la luz arterial a expensas de un aumento del tamaño del vaso hasta fases avanzadas⁹. El GIMc ha demostrado estar asociado con la incidencia¹⁰⁻¹² y prevalencia¹³⁻¹⁶ de la enfermedad cardiovascular en todas sus formas clínicas. Los principales factores de riesgo cardiovascular son factores predictores del GIMc^{17,18}. Igualmente, se ha podido observar la regresión del GIMc tras tratamiento farmacológico para distintos factores de riesgo cardiovascular^{19,20}. Con toda esta información se considera el GIMc como un marcador subrogado de enfermedad cardiovascular y un factor de riesgo independiente de enfermedad aterosclerótica

generalizada⁸ por lo que se preconiza como una herramienta de detección de aterosclerosis en prevención primaria de la enfermedad²¹.

El objetivo principal de nuestro estudio es describir los valores medios y máximos del GIMc en los tres segmentos de arteria carótida más ampliamente estudiados en relación con la arteriosclerosis: carótida común (CC), bulbo carotídeo (BC) y carótida interna (CI) en una población sin factores de riesgo cardiovascular conocidos. Estos valores pueden servir como referencia para definir la normalidad del GIMc y detectar mejor a aquellos sujetos con mayor aterosclerosis en nuestra población. Como objetivo secundario nos planteamos conocer los factores determinantes del GIMc en individuos sin factores de riesgo cardiovascular clásicos.

MÉTODOS

Sujetos a estudio. Entre enero de 2006 y junio de 2008 se reclutaron un total de 218 sujetos entre empleados del Hospital Universitario Miguel Servet, y empleados y alumnos de la Universidad de Zaragoza, España, especialmente estudiantes de la Facultad de Medicina y de la “Universidad de la Experiencia”, que es un programa formativo dirigido a personas mayores de 60 años desarrollado en nuestra universidad. El objetivo del reclutamiento fue conseguir una muestra que incluyera al menos 10 voluntarios de cada sexo y por cada uno de los 6 grupos de edad preestablecidos entre 18 y 80 años. Los criterios de inclusión fueron ausencia de historia personal de enfermedad cardiovascular, ausencia de enfermedad cardiovascular prematura en familiares de primer grado (varones menores de 55 años y mujeres menores de 65 años), consumo de cigarrillos menor de 15 paquetes por año (número de cigarrillos consumidos al día cuantificado en paquetes por el número medio de años de consumo), no haber sido diagnosticado de dislipemia, hipertensión arterial o diabetes mellitus, y no

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65

presentar ninguna enfermedad grave que requiriera hospitalización durante el último año.

La obtención de datos clínicos, la extracción de sangre para estudio bioquímico y el estudio ecográfico de arteria carótida se realizó en una única entrevista. Antes de realizar cualquier procedimiento se recogió el consentimiento informado por escrito de cada paciente según un protocolo aprobado por el comité de ética de nuestro hospital.

Los datos clínicos incluyeron edad, sexo, antecedentes personales y familiares de enfermedad, consumo diario de alcohol y cigarrillos, talla, peso, perímetro de cintura, presión arterial sistólica (PAS) y diastólica (PAD) medida en el antebrazo izquierdo tras 5 minutos de reposo con un manguito Omron® homologado.

Análisis en sangre. A partir de una muestra de sangre obtenida tras al menos 10 horas de ayuno, se determinaron las concentraciones de colesterol total (CT), colesterol unido a las lipoproteínas de alta densidad (cHDL), lipoproteína (a) (Lp(a)), triglicéridos (TG), apolipoproteína A (apo A), apolipoproteína B (apo B), glucosa, hemoglobina A1c, proteína C reactiva (PCR), creatinina y hormona estimulante de tiroides (TSH) por procedimientos previamente descritos⁴. El colesterol unido a las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) se calculó por la fórmula de Friedewald.

Obtención del grosor intima-media de arteria carótida. A todos los sujetos se les realizó la medición del GIM de la pared posterior de ambas arterias carótidas mediante ecografía en modo B con un ecógrafo ACUSON SEQUOIA equipado con una sonda lineal de alta resolución de 8 cm de longitud y una frecuencia de 8 Mhz con la que se obtuvieron las imágenes en el centímetro final de CC, BC y primer centímetro de CI según el protocolo publicado previamente⁸. Una vez obtenidas, fueron almacenadas en un dispositivo externo y medidas por un único observador validado por el laboratorio de imagen vascular de Academic Medical Centre de Ámsterdam, Holanda.

Criterios de exclusión. En el análisis final se excluyó a aquellos sujetos con índice de masa corporal (IMC) >30 kg/m², PAS >160 y/o PAD >90 mmHg, cLDL >160 mg/dL, cHDL <30 mg/dL, TG >200 mg/dL, glucemia >125 mg/dL, creatinina >2,0 mg/dL o TSH >6 mcUI/mL.

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se han expresado en forma de media \pm desviación estándar cuando las variables tenían una distribución normal o mediante mediana y rango intercuartil en aquellas con distribución no normal.

Para obtener la diferencia entre las medias de las variables entre hombres y mujeres se utilizó el test de T-Student (en caso de variables con distribución normal) o el test U- de Mann Whithney cuando alguna de las variables a comparar no presentaba distribución normal. Para determinar la diferencia de medias entre los valores de CC, BC y CI entre los distintos grupos de edad en un mismo sexo se utilizó una prueba de ANOVA. La asociación entre las variables clínicas, bioquímicas y ecográficas se evaluó mediante la correlación de Pearson para las variables de distribución normal y con la correlación de Spearman para aquellas variables que no presentaban una distribución normal. Para determinar qué variables eran predictivas del GIMc en los distintos segmentos arteriales se utilizó el modelo de regresión lineal multinomial. Por último, se utilizó el modelo lineal general para ajustar los valores de acuerdo a las variables asociadas de forma independiente con el GIMc. En todas las pruebas estadísticas se utilizó como límite de significación $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se seleccionaron inicialmente 221 sujetos de los que 138 (64 varones y 74 mujeres entre 18 y 79 años) fueron utilizados en el análisis final, un vez aplicados los criterios de exclusión. En los 83 sujetos no incluidos (46 varones y 37 mujeres), las principales

causas de exclusión fueron: 41 de ellos la concentración basal de cLDL fue >160 mg/dl, en 25 sujetos el consumo medio de cigarrillos fue >15 paquetes x año, en 10 sujetos el IMC fue >30 kg/m², otros 10 sujetos por PAS y/o PAD >160/90 mmHg, y otras causas en 2 voluntarios.

La edad media, la media de cigarrillos consumido entre los fumadores activos o ex-fumadores, la concentración de cLDL y apo B fueron similares entre hombres y mujeres (Tabla 1). Los valores de CT, cHDL, apo A y Lp(a) fueron mayores en mujeres respecto a varones mientras que el resto de variables (PAS, PAD, IMC, perímetro de cintura abdominal, TG, PCR y glucosa) fueron mayores en el grupo de varones respecto al de mujeres. La mayoría de la población incluida en el estudio nunca había sido fumadora.

Los varones presentaron mayor GIMc medio y máximo respecto a las mujeres en cada uno de los segmentos explorados y en todos los grupos de edad (Tabla 1) con diferencias que llegaron a ser estadísticamente significativas en los valores medios de CI y de los tres segmentos arteriales. Las diferencias entre sexos tendieron a desaparecer hacia la sexta década de la vida (Figura 1).

Al analizar la distribución de los valores medios del GIMc medio de todos los segmentos por sexos, en los varones el límite superior del intervalo osciló entre 0,59 mm en menores de 25 años y 0,95 mm en mayores de 65 años (Tabla 2). En los sujetos entre 25 y 45 años el límite superior de los valores del GIMc medio fue 0,66 mm. A partir de esta edad, se observó un aumento llamativo del GIMc alcanzando 0,71 mm en sujetos entre 45 y 54 años y de 0,81 mm en sujetos entre 55 y 64 años. En el grupo de mujeres el límite superior de la media total osciló entre 0,52 mm en menores de 25 años y 0,93 mm en mayores de 65 años (Tabla 2). Los límites superiores de los intervalos fueron 0,58 mm en el grupo entre 25 y 34 años, 0,64 mm en el grupo entre 35 y 44 años, 0,70 mm en aquellas entre 45 y 54 años y 0,80 mm en el grupo entre 55 y 64 años.

Los límites superiores de los valores máximos del GIMc por grupos de edad oscilaron entre 0,81 y 1,18 mm en varones y 0,66 y 1,13 mm en mujeres, desde menores de 25 años hasta mayores de 64 (Tabla 3). Mientras que en los varones se registró un mayor crecimiento del GIM entre la cuarta y quinta década de vida, en las mujeres ocurrió lo mismo entre la quinta y la sexta (Figura 1). La media de los valores máximos de los seis segmentos también fue mayor en varones (1,14 mm) respecto a mujeres (1,04 mm) (Tabla 1). Con respecto al estudio por segmentos, en todos los grupos de edad los valores máximos del GIMc se registraron en el bulbo ($1,09 \pm 0,30$ mm en varones y $1,02 \pm 0,28$ mm en mujeres) (Tabla 1).

La edad resultó ser el principal factor determinante en el engrosamiento de la pared arterial de todos los segmentos explorados. El GIMc medio de todos los segmentos fue la medición en la que se obtuvo un modelo con el mayor valor predictivo de la muestra (R^2 ajustada=0,669). Además de la edad (Beta=0,662, $P < 0,001$) otras variables predictoras del GIMc fueron sexo masculino (Beta=0,120, $P=0,027$), PAS (Beta=0,135, $P=0,029$) y cLDL (Beta=0,131, $P=0,029$) (Tabla 4). Por cada año de vida se registró un aumento del GIMc medio 0,005 mm en el valor medio de los tres segmentos (Tabla 4) y de 0,008 mm en la media de los valores máximos de los tres segmentos (Tabla 5).

Al ajustar los valores del GIMc con respecto a edad y sexo se observó una asociación positiva entre el engrosamiento de la pared de la arteria carótida y las cifras de PAS (Figura 2) y la concentración de cLDL (Figura 3). El aumento del GIMc se produjo para todo incremento en la PAS siendo el engrosamiento más evidente a partir de valores superiores a 120 mmHg. Lo mismo ocurrió respecto a la concentración de cLDL. En este caso es a partir de 125 mg/dL cuando se observó un engrosamiento mayor del GIMc.

DISCUSIÓN

Los valores obtenidos en la muestra estudiada permiten describir la distribución del GIMc en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular clásicos. El GIMc en esa población es muy dependiente de la edad y en menor medida del sexo, por lo que presentamos los valores de acuerdo a grupos de edad y sexo. Dentro de la variabilidad internormal, hemos elegido como límite de normalidad los valores de GIMc medio y máximo de los tres segmentos carotídeos para cada grupo de edad ya que aportan una información más consistente y complementaria que los datos referidos únicamente a CC^{5,6}. Además hemos elegido el percentil 75 como límite superior de normalidad ya que en la mayoría de los estudios realizados hasta el momento los valores de GIM en poblaciones sin factores de riesgo cardiovascular se situó por debajo de este límite con respecto a estudios de población con factores de riesgo y/o enfermedad cardiovascular. El riesgo cardiovascular de los sujetos sin factores de riesgo clásicos es muy bajo⁸ por lo que creemos que nuestros resultados pueden ser muy útiles para definir la normalidad en nuestra población y por tanto para ayudar a identificar a sujetos con mayor riesgo absoluto y relativo de enfermedad cardiovascular para su edad. De acuerdo con ello todos nuestros valores de normalidad se encuentran entre los dos primeros quintiles de la distribución de GIMc del Cardiovascular Health Study, grupos en quienes el riesgo de infarto e ictus fue muy bajo (1,1%/año) considerando que se trataba de sujetos mayores de 65 años, con una media de edad de 72,5 años⁵, y son inferiores a los que presentan los sujetos que no desarrollaron enfermedad cardiovascular en el estudio ARIC en el que la distribución de edad es similar a la de nuestra muestra⁶. No hemos encontrado estudios de las presentes características en la literatura. Junyent y cols estudiaron un grupo de sujetos normolipémicos pero no se excluyeron otros factores de

riesgo y solo se midió la CC en dicho estudio. Los valores de CC en nuestro estudio son muy consistentes con los encontrados por ellos⁹.

La edad es la principal variable relacionada con el engrosamiento de la pared arterial en todos los segmentos tanto en hombres como en mujeres en nuestro estudio y en la mayoría de estudios realizados en población general^{5,6,10}. Es además uno de los principales factores relacionados con el remodelado de la pared arterial y con la evolución de la aterosclerosis en general²⁶. La evolución observada no siguió un modelo lineal. El engrosamiento del GIMc se hace más acusado a partir de la quinta década de vida en varones y de la sexta en mujeres. Este mismo patrón no lineal de progresión del engrosamiento de la pared arterial se ha observado en otras poblaciones^{10,27}.

La PAS y el cLDL se asociaron con mucha menor intensidad con la progresión del GIMc. Para ambas variables se observó un punto de inflexión a partir del cual avance en el GIM de la pared arterial fue mucho más acusado (120 mmHg de PAS y 125 mg/dL de cLDL) si bien la progresión se observó en todos los valores de la muestra. Los valores de PAS y de CT han demostrado ser determinantes en engrosamiento de la pared arterial de los principales estudios poblacionales llevados a cabo hasta el momento^{10,28}, Nuestro estudio confirma esta observación incluso en sujetos sin otros factores de riesgo.

CONCLUSIONES

En sujetos sin historia previa de enfermedad cardiovascular, factores de riesgo cardiovascular clásicos e historia familiar de enfermedad cardiovascular el límite superior de normalidad de los valores medios del GIMc en sujetos entre 20 y 79 años se encuentran entre 0,59 y 0,95 mm en varones y 0,52 y 0,93 mm en mujeres. El límite superior de la media de los valores máximos osciló entre 0,81 y 1,11 mm en varones y

0,66 y 1,13 mm en mujeres. Los principales factores determinantes del GIMc fueron la edad, el sexo masculino, la presión arterial sistólica y cLDL (con mayor intensidad a partir de los 120 mmHg de PAS y de 125 mg/dL de cLDL). La relación observada entre GIMc y edad no es lineal, observándose un engrosamiento más acusado a partir de la quinta década de vida en varones y de la sexta en mujeres.

Agradecimientos.

Trabajo realizado con ayudas del Fondo de Investigación Sanitaria (FIS): PI06/0365 y RTIC C06/01 (RECAVA), del antiguo Ministerio de Educación y Ciencia: SAF2005-07042 y ayudas en investigación para profesionales con formación sanitaria especializada, convocatoria BOE 08/07/2005.

Agradecemos el asesoramiento técnico y científico prestado por Johan Gort y Eric de Groot del Laboratorio de imagen vascular del Academic Medical Center, Ámsterdam, Holanda.

BIBLIOGRAFIA

1. WHO Health Organization. WHO Statistical Information System (WHOSIS).
Disponibile en: <http://www3.who.int/whosis>.
2. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J, 3rd. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. Ann Intern Med. 1961;55:33-50.
3. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-97.
4. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: full text. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). Eur J Cardiovasc Prev Rehabil. 2007;14 Suppl 2:S1-113.
5. Comín E, Solanas P, Cabezas C, Subirana I, Ramos R, Gené-Badía J, et al. Estimating cardiovascular risk in Spain using different algorithms. Rev Esp Cardiol. 2007;60:693-702
6. Brindle PM, McConnachie A, Upton MN, Hart CL, Davey Smith G, Watt GC. The accuracy of the Framingham risk-score in different socioeconomic groups: a prospective study. Br J Gen Pract. 2005;55:838-45.
7. Iliadou A, Snieder H. Genetic epidemiological approaches in the study of risk factors for cardiovascular disease. Eur J Epidemiol. 2004;19:209-17.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
8. De Groot E, Hovingh GK, Wiegman A, Duriez P, Smit AJ, Fruchart JC, et al. Measurement of arterial wall thickness as a surrogate marker for atherosclerosis. *Circulation*. 2004;109:III33-8.
9. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, Stankunavicius R, Kolettis GJ. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316:1371-5.
10. Chambless LE, Heiss G, Folsom AR, Rosamond W, Szklo M, Sharrett AR, et al. Association of coronary heart disease incidence with carotid arterial wall thickness and major risk factors: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study, 1987-1993. *Am J Epidemiol*. 1997;146:483-94.
11. Bots ML, Hoes AW, Koudstaal PJ, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and risk of stroke and myocardial infarction: the Rotterdam Study. *Circulation*. 1997;96:1432-7.
12. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK, Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.
13. Burke GL, Evans GW, Riley WA, Sharrett AR, Howard G, Barnes RW, et al. Arterial wall thickness is associated with prevalent cardiovascular disease in middle-aged adults. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Stroke*. 1995;26:386-91.
14. Bots ML, Hofman A, Grobbee DE. Common carotid intima-media thickness and lower extremity arterial atherosclerosis. The Rotterdam Study. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:1885-91.

15. Allan PL, Mowbray PI, Lee AJ, Fowkes FG. Relationship between carotid intima-media thickness and symptomatic and asymptomatic peripheral arterial disease. The Edinburgh Artery Study. *Stroke*. 1997;28:348-53.
16. Lorenz MW, von Kegler S, Steinmetz H, Markus HS, Sitzer M. Carotid intima-media thickening indicates a higher vascular risk across a wide age range: prospective data from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS). *Stroke*. 2006;37:87-92.
17. Dobs AS, Nieto FJ, Szklo M, Barnes R, Sharrett AR, Ko WJ. Risk factors for popliteal and carotid wall thicknesses in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Am J Epidemiol*. 1999;150:1055-67.
18. Bots ML, Hofman A, de Bruyn AM, de Jong PT, Grobbee DE. Isolated systolic hypertension and vessel wall thickness of the carotid artery. The Rotterdam Elderly Study. *Arterioscler Thromb*. 1993;13:64-9.
19. Hedblad B, Wikstrand J, Janzon L, Wedel H, Berglund G. Low-dose metoprolol CR/XL and fluvastatin slow progression of carotid intima-media thickness: Main results from the Beta-Blocker Cholesterol-Lowering Asymptomatic Plaque Study (BCAPS). *Circulation*. 2001;103:1721-6.
20. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001;357:577-81.
21. Naghavi M, Falk E, Hecht HS, Jamieson MJ, Kaul S, Berman D, et al. From vulnerable plaque to vulnerable patient--Part III: Executive summary of the Screening for Heart Attack Prevention and Education (SHAPE) Task Force report. *Am J Cardiol*. 2006;98:2H-15H.

- 1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60
61
62
63
64
65
22. Jarauta E, Junyent M, Gilabert R, Plana N, Mateo-Gallego R, de Groot E, et al. Sonographic evaluation of Achilles tendons and carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2008;Oct 17. [Epub ahead of print]. En prensa.
 23. Howard G, Sharrett AR, Heiss G, Evans GW, Chambless LE, Riley WA, et al. Carotid artery intimal-medial thickness distribution in general populations as evaluated by B-mode ultrasound. ARIC Investigators. *Stroke*. 1993;24:1297-304.
 24. Junyent M, Gilabert R, Nunez I, Corbella E, Vela M, Zambon D, et al. Ecografía carotídea en la evaluación de aterosclerosis preclínica. Distribución de valores del grosor íntima-media y frecuencia de placas de ateroma en una cohorte comunitaria española. *Med Clin (Barc)*. 2005;125:770-4.
 25. Homma S, Hirose N, Ishida H, Ishii T, Araki G. Carotid plaque and intima-media thickness assessed by b-mode ultrasonography in subjects ranging from young adults to centenarians. *Stroke*. 2001;32:830-5.
 26. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, et al. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1994;14:840-56.
 27. Lorenz MW, Markus HS, Bots ML, Rosvall M, Sitzer M. Prediction of clinical cardiovascular events with carotid intima-media thickness: a systematic review and meta-analysis. *Circulation*. 2007;115:459-67.

28. Van der Meer IM, Iglesias del Sol A, Hak AE, Bots ML, Hofman A, Witteman
JC. Risk factors for progression of atherosclerosis measured at multiple sites in
the arterial tree: the Rotterdam Study. Stroke. 2003;34:2374-9.

PIES DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de los valores máximos del GIMc entre grupos de edad separados por sexos.

Figura 2: Medias marginales estimadas de los valores máximos de GIMc ajustados por edad, sexo y cLDL.

Figura 3: Medias marginales estimadas de los valores máximos de GIMc ajustados por edad, sexo y presión arterial sistólica.

Tabla 1. Características clínicas, perfil bioquímico y valores de GIMc de la población incluida en el estudio, según sexo.

Variable	Hombre N= 64	Mujer N=74	P
Edad (años)	42,9 ± 15,7	44,5 ± 16,8	0,620
Hábito tabáquico, n (%)			0,146
Nunca	38 (65,5)	59 (79,7)	
Fumador activo	9 (15,5)	5 (6,8)	
Exfumador	11 (19,0)	10 (13,5)	
Tabaco (Paquetes/día x años) [#]	7,5 ± 4,03	10,2 ± 4,65	0,130
Presión arterial sistólica (mm/Hg)	121 ± 11,2	113 ± 14,5	0,001
Presión arterial diastólica (mmHg)	75,0 ± 7,5	70,5 ± 9,3	0,003
Índice de masa corporal (kg/m ²)	25,1 ± 2,7	23,0 ± 2,9	0,000
Perímetro abdominal (cm)	90,8 ± 8,8	78,4 ± 8,3	0,000
Colesterol total (mg/dl)	177 ± 24,4	191 ± 27,3	0,002
Colesterol LDL (mg/dl)	117 ± 23,8	121 ± 21,7	0,302
Colesterol HDL (mg/dl)	45,5 ± 8,6	59,0 ± 11,5	0,000
Triglicéridos (mg/dl)*	81,0 (49,5-105)	50,0 (39,0-74,0)	0,000
Apolipoproteína A (mg/dL)	130 (20,6)	157 (30,3)	0,000
Apolipoproteína B (mg/dL)	93,0 (19,7)	89,0 (17,6)	0,275
Lipoproteína (a) (mg/dL)*	9,0 (4,8-19,5)	18,1 (8,1-38,4)	0,006
Proteína C Reactiva (mg/L)*	1,5 (0,8-3,1)	0,9 (0,4-2,1)	0,012
Glucosa (mg/dL)	93,7 ± 12,1	86,6 ± 7,9	0,000
GIM medio CC (mm)	0,6743 ± 0,1433	0,6497 ± 0,1436	0,317
GIM medio BC (mm)	0,7408 ± 0,1773	0,6971 ± 0,1586	0,129
GIM medio CI (mm)	0,6412 ± 0,2666	0,5732 ± 0,1662	0,035*
GIM medio tres segmentos (mm)	0,6872 ± 0,1436	0,6400 ± 0,1355	0,049*
GIM máximo CC (mm)	0,8648 ± 0,1753	0,8169 ± 0,1827	0,120
GIM máximo BC (mm)	1,0893 ± 0,3034	1,0116 ± 0,2846	0,123
GIM máximo CI (mm)	0,9007 ± 0,3557	0,8087 ± 0,2583	0,083
GIM máximo tres segmentos (mm)	1,1384 ± 0,3738	1,0434 ± 0,2940	0,097

Valores expresados en media ± desviación estándar o mediana (rango intercuartil),

Paquetes/día x años significa: Número medio de cigarrillos consumidos al día (cuantificados en paquetes; 1 paquete = 20 cigarrillos) por el número de años de consumo.

[#] Datos referidos a fumadores activos y exfumadores

Tabla 2. Valores medios y límite superior de la distribución normal de GIMc medio por segmentos y grupos de edad en hombres y mujeres*.

Segmento carotídeo	Grupo edad (años) (n)	Hombres		Mujeres	
		Media (mm)	Límite superior (mm)	Media (mm)	Límite superior (mm)
GIM medio carótida común	< 25 (22)	0,5637	0,6124	0,5174	0,5593
	25 a 34 (22)	0,6083	0,6678	0,5732	0,6340
	35 a 44 (25)	0,6179	0,6943	0,5801	0,6294
	45 a 54 (25)	0,6716	0,6879	0,6508	0,7130
	55 a 64 (22)	0,7474	0,7941	0,7269	0,7696
	>64 (22)	0,8343	0,9126	0,8673	0,9781
GIM medio bulbo	< 25 (22)	0,6056	0,6618	0,5358	0,5918
	25 a 34 (22)	0,6190	0,7243	0,6222	0,6840
	35 a 44 (25)	0,6593	0,7142	0,6474	0,7161
	45 a 54 (25)	0,7811	0,8143	0,6998	0,7668
	55 a 64 (22)	0,8379	0,9214	0,7604	0,8611
	>64 (22)	0,9429	1,0542	0,9296	1,0436
GIM medio carótida interna	< 25 (22)	0,4702	0,5638	0,4398	0,4758
	25 a 34 (22)	0,5686	0,6632	0,4732	0,5359
	35 a 44 (25)	0,5981	0,6556	0,5259	0,6006
	45 a 54 (25)	0,6055	0,7043	0,5876	0,6241
	55 a 64 (22)	0,7372	0,8066	0,6274	0,7103
	>64 (22)	0,8842	1,0080	0,7905	0,9435
GIM medio tres segmentos	< 25 (22)	0,5465	0,5891	0,4977	0,5184
	25 a 34 (22)	0,5986	0,6665	0,5562	0,5831
	35 a 44 (25)	0,6251	0,6630	0,5844	0,6483
	45 a 54 (25)	0,6861	0,7185	0,6461	0,7037
	55 a 64 (22)	0,7742	0,8110	0,7049	0,7961
	>64 (22)	0,8906	0,9521	0,8625	0,9342

GIM= Grosor íntima-media

*El límite superior de la normalidad corresponde al percentil 75 de la distribución

Tabla 3. Valores medios y límite superior de la distribución normal de GIMc máximo por segmentos y grupos de edad en hombres y mujeres*.

Segmento carotídeo	Grupo edad (años) (n)	Hombres		Mujeres	
		Media (mm)	Límite superior (mm)	Media (mm)	Límite superior (mm)
GIM máximo carótida común	< 25 (22)	0,6758	0,7668	0,6141	0,6728
	25 a 34 (22)	0,7297	0,7645	0,6890	0,7498
	35 a 44 (25)	0,7491	0,8227	0,6645	0,7306
	45 a 54 (25)	0,8241	0,8540	0,7746	0,8520
	55 a 64 (22)	0,8756	0,9345	0,8458	0,9120
	>64 (22)	0,9608	1,0740	1,0061	1,105
GIM máximo bulbo	< 25 (22)	0,7888	0,8561	0,6790	0,7220
	25 a 34 (22)	0,8110	0,8872	0,8171	0,8843
	35 a 44 (25)	0,8622	0,9285	0,8305	0,9036
	45 a 54 (25)	1,0839	1,1251	0,9359	1,0594
	55 a 64 (22)	1,0010	1,1590	1,0793	1,2148
	>64 (22)	1,1813	1,3245	1,1972	1,3238
GIM máximo carótida interna	< 25 (22)	0,5924	0,6903	0,5548	0,6357
	25 a 34 (22)	0,7297	0,8216	0,6018	0,6587
	35 a 44 (25)	0,7273	0,7780	0,6429	0,7270
	45 a 54 (25)	0,7487	0,8640	0,7374	0,7895
	55 a 64 (22)	0,9133	1,0347	0,7722	0,8540
	>64 (22)	1,0509	1,2175	0,9781	1,1466
GIM máximo tres segmentos	< 25 (22)	0,6857	0,8130	0,6160	0,6571
	25 a 34 (22)	0,7568	0,8463	0,7026	0,7695
	35 a 44 (25)	0,7795	0,8294	0,7126	0,7971
	45 a 54 (25)	0,8856	0,9469	0,8160	0,8816
	55 a 64 (22)	0,9630	1,0185	0,8991	0,9777
	>64 (22)	1,0643	1,1058	1,0605	1,1336

GIM= Grosor íntima-media

*El límite superior de la normalidad corresponde al percentil 75 de la distribución

Tabla 4. Variables asociadas de forma independiente con el GIMc medio de los tres segmentos carotídeos tras regresión lineal multivariante en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular ni historia personal de enfermedad cardiovascular.

Variable	B	P	95% intervalo de confianza	R ² ajustada	Beta
Constante	0,181	0,023	0,054-0,307		
Edad (años)	0,005	0,000	0,004-0,006	0,629	0,662
Sexo (hombre)	0,032	0,027	0,004-0,060	0,651	0,120
Presión arterial sistólica (mmHg)	0,001	0,029	0,001-0,002	0,660	0,135
Colesterol LDL (mg/dL)	0,001	0,029	0,0005-0,001	0,669	0,131

Las variables introducidas en el modelo fueron aquellas con un valor de P <0,20 en el análisis bivariado: edad, sexo, presión arterial sistólica, y colesterol LDL

Tabla 5. Variables asociadas de forma independiente con el GIMc medio de los valores máximos de los tres segmentos carotídeos tras regresión lineal multivariante en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular ni historia personal de enfermedad cardiovascular.

Variable	B	P	95% intervalo de confianza	R ² ajustada	Beta
Constante	0,430	0,000	0,377-0,484		
Edad (años)	0,008	0,000	0,007-0,009	0.609	0,789
Sexo (hombre)	0,057	0,001	0,022-0,092	0,636	0,170

Las variables introducidas en el modelo fueron aquellas con un valor de P <0,20 en el análisis bivariado: edad, sexo, presión arterial sistólica y proteína C reactiva.

Figura 1

GIMc máximo, mm

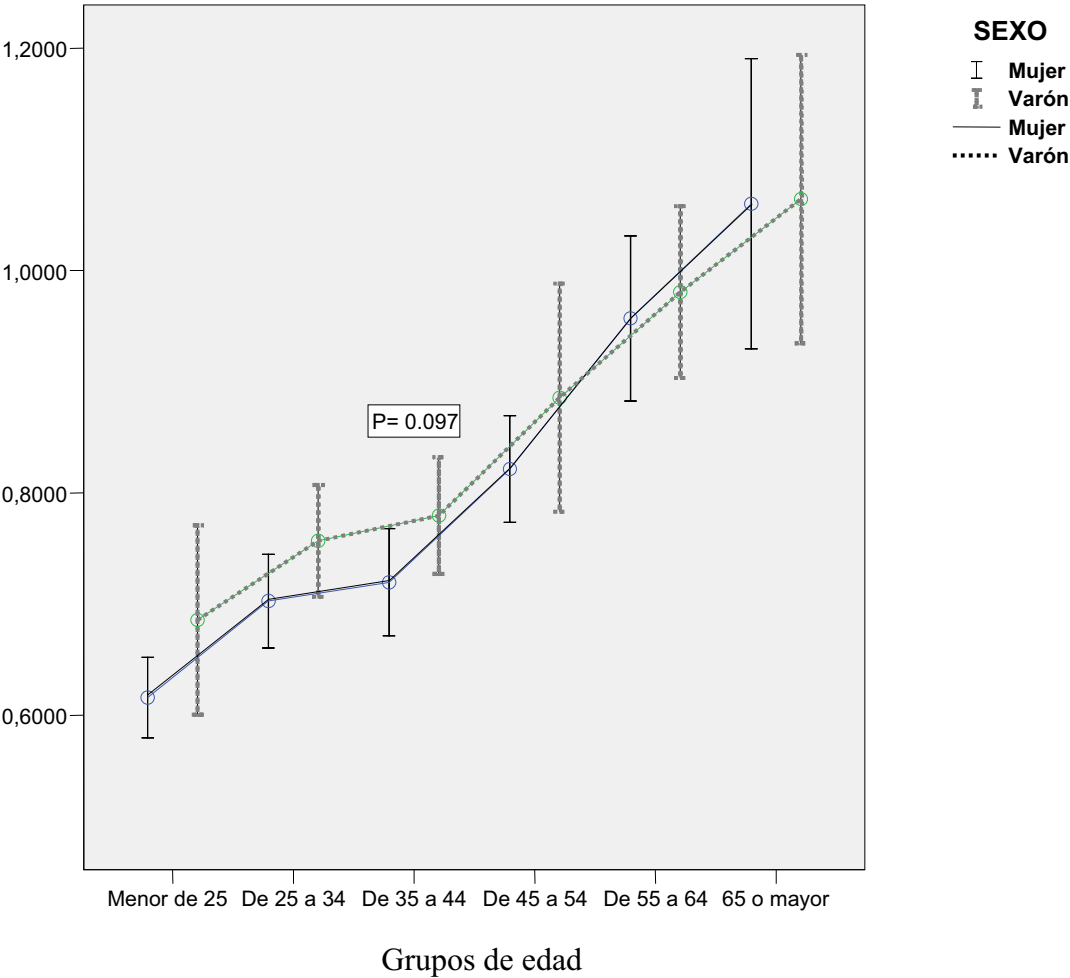


Figura 2

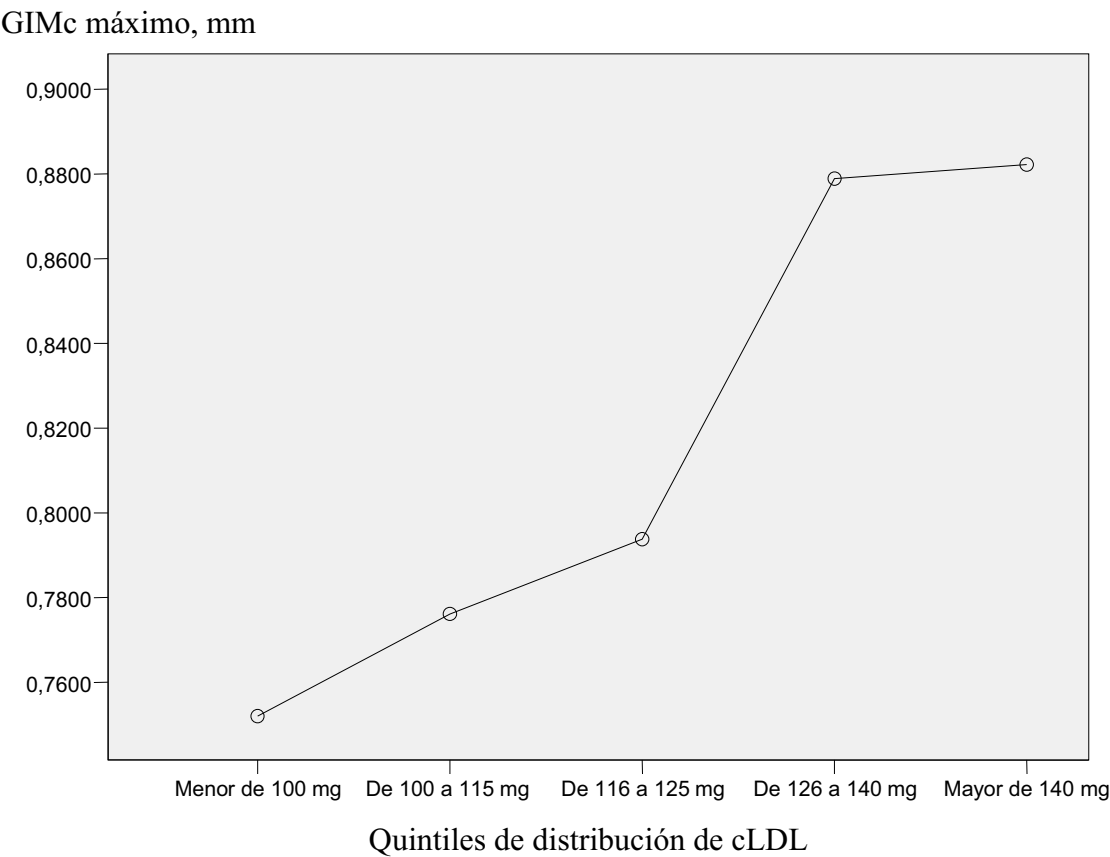
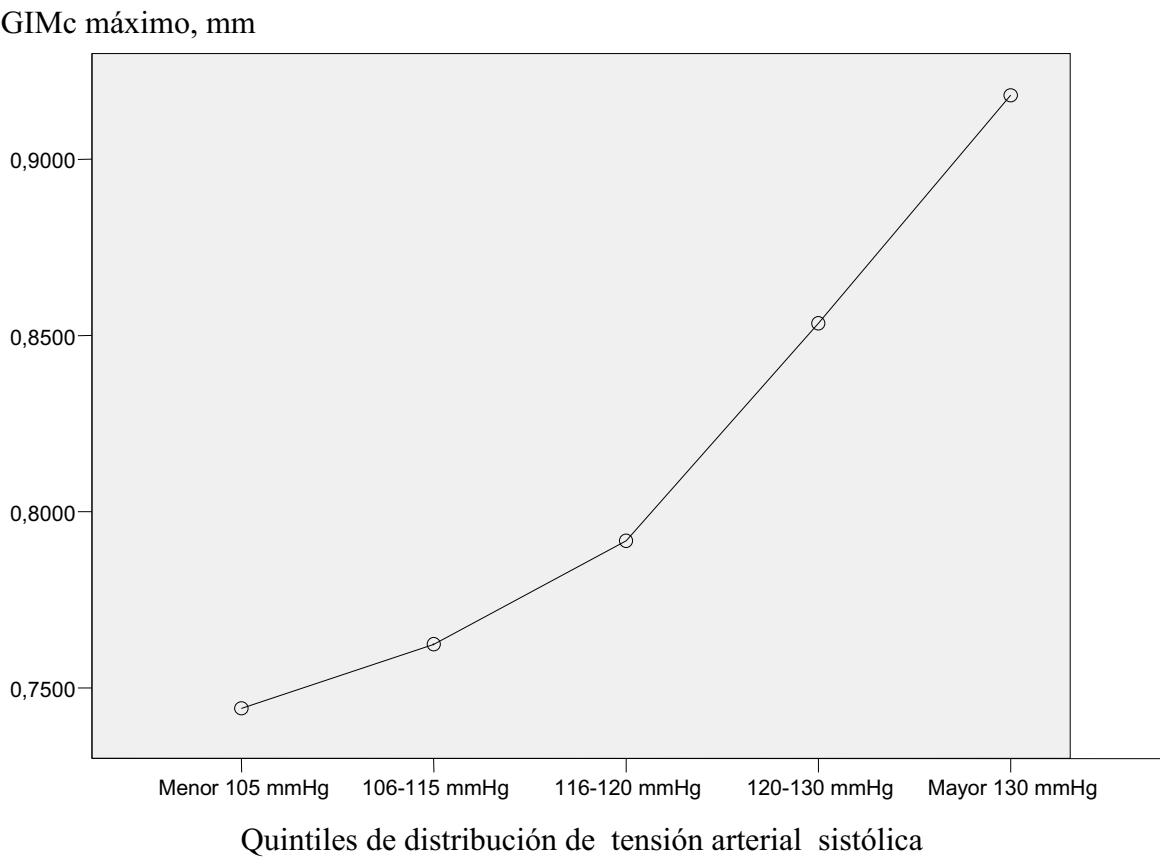


Figura 3



Dr. D. Fernando Alonso
Editor Jefe
Revista Española de Cardiología

Estimado Dr. Alonso

Remitimos para su consideración el manuscrito titulado: “Grosor íntima-media carotídeo en sujetos sin factores de riesgo cardiovascular” para su potencial publicación en la sección de artículos originales de la Revista Española de Cardiología.

En este manuscrito hemos analizado el grosor íntima-media carotídeo en un grupo de personas homogenamente distribuidas entre los 18 y 80 años, de ambos sexos y que creemos son representativos de la “normalidad” arterial carotídea, ya que se han excluido los principales factores de riesgo cardiovasculares.

Creemos que el artículo tiene importantes fortalezas que merecen su publicación: la población ha sido seleccionada de forma muy rigurosa y homogénea; no existen trabajos semejantes en la literatura, el procedimiento de medición del grosor carotídeo ha sido realizado con un protocolo muy estandarizado internacionalmente (es el mismo que el utilizado en muchos estudios recientes, como el estudio ENHANCE), las lecturas se hacen de forma semiautomática con un software (eTRACK) validado anteriormente, los ecografistas y la persona encargada de las lecturas de los estudios carotídeos han tenido que validarse de forma externa (Academic Medical Center de Amsterdam), y las lecturas se han realizado de forma ciega a la información clínica.

Por todo ello creemos que nuestros datos pueden tener mucha utilidad clínica al poder servir de referencia de los rangos de normalidad para los diferentes grupos de edad, tanto para hombre como para mujeres, de una prueba de enorme potencial clínico.

En espera de sus noticias, reciba un cordial saludo

Fernando Civeira

Zaragoza 18 de diciembre de 2008

Artículo 3

Jarauta E, Mateo-Gallego R, Gilabert R, Plana N, de Groot E, Otvos J, Masana L, Ros E and Civeira F.

Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia and Familial Combined Hyperlipidemia

Enviado a *Atheroscl Thromb Vasc Biol*

Title: Carotid Atherosclerosis in Familial Hypercholesterolemia and Familial Combined Hyperlipidemia

Corresponding author: Estíbaliz Jarauta. Hospital Universitario Miguel Servet

Avda. Isabel La Católica, 1-3. 50009 Zaragoza, Spain

Phone: (+34) 976765500. Fax: (+34) 976369985. E-mail: estijarauta@gmail.com

Short title: Carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipidemia

Authors: Estibaliz Jarauta M.D.^a, Rocio Mateo-Gallego R.D.^a, Rosa Gilabert Ph.D.^b, Nuria Plana M.D., Ph.D.^c, Eric de Groot M.D.^d, James D. Otvos Ph.D.^e, Luis Masana M.D., Ph.D.^c, Emilio Ros, M.D., Ph.D.^b, Fernando Civeira M.D., Ph.D.^a

Institutions: ^a Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud (I+CS), Zaragoza, Spain; ^b Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi Sunyer, Hospital Clínic, Barcelona and Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CB06/03), Instituto de Salud Carlos III, Spain; ^c Hospital Universitari Sant Joan. Universitat Rovira i Virgili and Ciber DEM, Reus, Spain; ^d Image Vascular Center, Amsterdam Medical Center, Amsterdam, the Netherlands; ^e LipoScience Inc., Raleigh, NC, USA.

Conflict of interest: James D. Otvos Liposcience ?

Total words of the article:

Total words of the abstract: 290.

Total number of figures and tables: 6

Abstract. The aims of this study were to describe carotid intima-media thickness (IMT) in familial hypercholesterolemia (FH) and familial combined hyperlipidemia (FCH), to evaluate contributions of traditional cardiovascular risk factors and the impact of lipoprotein number and size - as assessed by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy - to specify cardiovascular disease risk. The study included 572 FH subjects, 250 FCH subjects and 200 unaffected controls. We observed presence of FH accounted for an almost doubled number of LDL particles if compared to controls (1952 ± 661 nmol/L versus 1154 ± 368 nmol/L respectively), but with a similar mean size and distribution of LDL subclasses. There were no differences in HDL number or size between FH and controls. The FCH subjects presented with a double number of LDL particles if compared to controls; LDL was similar to FH subjects with a much higher number of small LDL particles (1519 ± 731 nmol/L versus 887 ± 784 nmol/L in FH and 545 ± 409 nmol/L). FCH subjects showed a lower number of large HDL particles and a lower number of small HDL particles than in control and FH subjects. FH and FCH subjects had significantly increased IMT in all carotid segments analyzed compared with healthy control subjects. IMT was higher in FH than in FCH patients and than in controls in the youngest individuals. IMT in FCH patients reached FH values in the fourth decade of life, and from that age onwards FCH patients presented higher IMT than FH. Multivariate regression analyses revealed that age, sex, non-HDL cholesterol, tobacco consumption and systolic blood pressure were significant and independent predictors of IMT. Combined, these factors explained almost 68.5% of the observed IMT variation in controls, but only 37% in FH and 35% in FCH. In a backward regression analysis among NMR lipoproteins, only intermediate-density lipoprotein number in FH increased carotid IMT prediction.

Condensed abstract

We compared intima-media thickness (IMT), cardiovascular risk factors and lipoproteins distribution in familial hypercholesterolemia and familial combined hyperlipemia. Total number of LDL particles was similar between FH and FCH subjects. FCH showed lower mean size of LDL particles than FH and controls. IMT was higher in FCH and FH than in controls. Multivariate regression analyses revealed that age, sex, non-HDL cholesterol, tobacco consumption and systolic blood pressure were significant and independent predictors of IMT. Combined, these factors explained almost 68.5% of the observed IMT variation in controls, but only 37% in FH and 35% in FCH. Among NMR lipoproteins, only intermediate-density lipoprotein number in FH increased carotid IMT prediction although with borderline significance.

Introduction

Accepted lifestyle intervention strategies on a population wide level are essential in the prevention of cardiovascular disease (CVD) (1). However, certain individuals with very high-risk conditions, such as certain genetic lipid disorders, may not sufficiently benefit from those general intervention strategies and may require more specific diagnostic testing and treatment including start of preventive drug therapy at early age (2). In fact, more than half of patients with premature CAD have a familial lipoprotein disorder (3), with familial combined hyperlipidemia (FCH) and familial hypercholesterolemia (FH) being two of the most common and atherogenic abnormalities (3,4). For these reasons subjects with FH and FCH can be considered as high risk individuals for whom aggressive lipid lowering LDL cholesterol goals, even from childhood and equivalent to those subjects with preexisting CVD, are recommended (1,2,5).

However, as there is a great variability in frequency and age of onset of CVD in FH and FCH among affected subjects (6) there is room to considerably improve diagnostic and therapeutic specificity. The phenotype variability is only in part explained by traditional CVD risk factors (7), genetic cause of the hyperlipidemia (8) or genetic variation in other non-causative genes (9). Also, there are important differences between FH and FCH. CVD is almost exclusively coronary disease in FH (10), but more diffuse in FCH (11). Unlike in FH, in FCH total and LDL cholesterol are usually much lower and in most cases not substantially increased until adulthood. This is in contrast with FH of whom cholesterol levels are elevated from birth onwards (12).

Surprisingly however, FCH CVD disease risk is in the same range as in FH. One of the proposed mechanisms of the high CVD risk in FCH is due to the predominance of dense LDL particles subspecies. This particle is susceptible to subintimal accumulation and oxidative modification and therefore may considerably contribute to the initiation of atherosclerosis (13).

Due to the high phenotype variability and the insufficient precision of CVD prediction in FH and FCH, preclinical detection of vascular atherosclerosis, determination of at risk individuals is cumbersome. To specify disease risk, carotid artery intima-media thickness (IMT), a well-validated surrogate marker of future CHD events (16), has emerged as a useful tool in selected individuals with familial hyperlipidemias to guide preventive therapeutic regimens (14,15,18-21). However, carotid IMT has been scarcely studied in FCH and all of these studies dealt with small patient groups (22-26). Also no direct comparison has been performed so far between carotid IMT in FH and in FCH in the light of the different types of lipoprotein particles and other laboratory and clinical determinants of cardiovascular disease.

The aim of the study described in this paper is therefore to investigate carotid IMT distributions in FH and FCH patients and to evaluate differential effects of traditional cardiovascular risk factors on carotid atherosclerosis between them, as well as the potential

diagnostic and therapeutic improvement in individual diagnosis and therapy if lipoprotein number and lipoprotein size are specified by nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.

METHODS

Design and study subjects

In a cross-sectional study, all consecutive patients from October 2005 to December 2008 over 17 years of age from three Lipid Clinics located at university hospitals in Northern Spain (Hospital Miguel Servet of Zaragoza, Hospital Clínic of Barcelona and Hospital Sant Joan of Reus) with the clinical diagnosis of FH and FCH were included in the study. The FCH group includes 50 subjects from the Hospital Clinic of Barcelona than has been previously published (26). The subjects were referred by primary care physicians for diagnosis of lipid alterations or because of alleged refractoriness to treatment. Within 2 to 6 weeks of the first visit, all participants underwent sonographic assessment of carotid atherosclerosis according to a predefined protocol, fasting blood samples were drawn. All patients provided informed consent to a protocol as approved by the medical ethical review boards of the participating institutions.

FH was defined as those subjects with off-treatment LDL cholesterol levels above the age- and sex-specific 95th percentile of a Spanish reference population (27), triglyceride below 200 mg/dL, and familial vertical transmission with at least one first-degree relative with LDL cholesterol above age- and sex-specific 95th percentile. FCH was based on the presence of primary combined hyperlipidemia in untreated patients whose serum cholesterol and triglyceride concentration were over the sex- and age-adjusted 90th percentile for the Spanish population (27), serum total apolipoprotein B levels ≥ 120 mg/dL and, at least, one first-degree relative with hyperlipidemia (total cholesterol and/or triglycerides >90th percentile). Secondary

hyperlipidemias including hypothyroidism, nephrotic syndrome, renal or liver failure and severe obesity ($\text{BMI} > 35 \text{ Kg/m}^2$), and apoE2/E2 genotype were ruled out in all subjects. Clinical data, history of cardiovascular disease (CVD), demographic and anthropometric measurements and a physical examination were obtained in each subject. A control group consisted of healthy unrelated men and women volunteers aged 18-75 years, who underwent a medical examination all from the Hospital Miguel Servet of Zaragoza. Exclusion criteria were personal or parental history of CVD or dyslipidemia, current acute illness or use of drugs that might influence glucose or lipid metabolism.

Biochemical analyses

In asymptomatic subjects, fasting blood for baseline biochemical profiles was drawn after at least 4 weeks without hypolipidemic drug treatment. In patients with prior coronary heart disease, baseline lipid values were obtained from clinical records. Cholesterol and triglycerides were determined by standard enzymatic methods. HDL cholesterol was measured by a precipitation technique. LDL cholesterol was estimated with the Friedewald equation when serum triglycerides were $< 400 \text{ mg/dL}$. Non-HDL cholesterol was calculated as total cholesterol minus HDL cholesterol. Apolipoprotein (apo) B and lipoprotein(a) (Lp(a)) were determined by using immunoturbidimetry (Unimate 3, Roche, Basel, Switzerland). C reactive protein (CRP) was determined by nephelometry using IMMAGE® Immunochemistry System (Beckman Coulter).

NMR spectroscopy. Lipoprotein subclass particle concentrations and average size of lipoprotein particles were measured by proton NMR spectroscopy (LipoScience, Inc., Raleigh, North Carolina) in 158 (79%) controls, 344 FH (60.1%) and 190 (76%) FCH subjects as previously described (28). The selection of subjects for NMR analysis was based in those subjects in whom

a fasting sample without lipid lowering drug in the previous 5 weeks were available. Particle concentrations of lipoprotein subclasses of different size were obtained directly from the measured amplitudes of their spectroscopically distinct lipid methyl group NMR signals. Weighted-average lipoprotein particle sizes are derived from the sum of the diameter of each subclass multiplied by its relative mass percentage based on the amplitude of its methyl NMR signal. The concentrations (in nanomoles of particles/litre or nmol/L) of the following subclasses were measured: small LDL (diameter of 18.0–21.2 nm), large LDL (21.2–23.0 nm), intermediate-density lipoprotein (IDL) (23.0–27.0 nm), large high-density lipoprotein (HDL) (8.8–13.0 nm), medium HDL (8.2–8.8 nm), small HDL (7.3–8.2 nm), large very low-density lipoprotein (VLDL) (>60 nm), medium VLDL (35.0–60.0 nm), and small VLDL (27.0–35.0 nm). The small LDL subclass encompassed both intermediate small (19.8–21.2 nm) and very small particles (18.0–19.8 nm), which have nearly identical correlations with lipid and lipoprotein levels, so they were combined into one subclass, as previously reported (29).

Carotid intima-media thickness

For carotid scans we used an Acuson Sequoia ultrasound instrument (Siemens Medical Solutions, Erlangen, Germany) equipped with a linear array ultrasound transducer (L7, 5-12 MHz). As previously described (18) scanning and image analysis procedures were standardized. In summary, scans were performed from a fixed lateral angle. The far walls of six carotid segments were visualized: the right and left common carotid arteries, carotid bifurcations, and internal carotid arteries. Carotid IMT parameters of interest were maximum IMT in any of the six carotid segments and the median of the maximum and mean carotid IMT measurements for each of the six artery segments. All procedures were performed by trained and certified sonographers (E.J. and F.C. in Zaragoza, R.G. in Barcelona, and N.P. in Reus). High resolution

images of each of the segments were saved in the diastole of the vessel as DICOM stills.

Recordings were stored on CD for further offline analysis. The ultrasound scans of the 3 centers were analyzed by a certified ultrasound reader in Zaragoza. Semiautomated edge-tracking software (eTRACK, AMC Vascular Imaging, Amsterdam, The Netherlands) was used. The ultrasound reader was blinded to demographic and clinical information of subjects.

Statistical analysis

Data are presented as means (\pm SD) for continuous variables, median and inter quartile ranges (IR) for variables with a skewed distribution, and as frequencies or percentages for categorical variables. Differences in mean values were assessed using t-tests or the Mann-Whitney U-test, as appropriate. Categorical variables were compared using chi-square tests. Univariate lineal general model was used to obtain carotid IMT values after adjusting by age and sex. The independent variables used in this model were: sex, age, tobacco consumption, waist circumference or BMI, systolic or diastolic blood pressure, LDL cholesterol or non-HDL cholesterol, HDL cholesterol, Lp(a) and CRP. Because of a skewed distribution, Spearman correlation test was used to evaluate the possible existence of association between carotid IMT measurements and all the variables included in the model. Carotid IMT measurements were transformed into their log values acquiring normal distribution for multinomial regression analyses. Multinomial regression test was used to determine the most predictive variables for carotid IMT. In a first model the variables used in the univariate analysis were used as independent covariates, and in a second step the NMR-measured lipoproteins were add as covariates. Finally, we classified all the patients by age according to decades obtaining 7 groups

from younger than 20 years to older than 70 years of age. All statistical analyses were performed with SPSS software (version 15.0), with significance set at $p < 0.05$.

Results

FCH patients were older than FH and controls (table 1). In the FCH group there were a higher proportion of men (65%) than in FH and controls, whereas male and female percentage was nearly equivalent in these latter groups. FH patients showed higher serum values of total cholesterol, LDL cholesterol, non-HDL cholesterol, apo A1, apo B and Lp(a) than FCH and controls. FCH subjects had higher values of triglycerides than FH and controls. Other traditional risk factors associated with CVD were more frequent in FCH subjects than in FH and controls (Table 1). The proportion of FH and FCH patients under statin treatment was very high (over 80%) and similar in both groups. There were not differences between FH and FCH in the rest of the clinical and biochemical variables including personal and familial history of CVD.

The lipoprotein particle concentration and size are summarized in table 2. FH presented almost doubled number of LDL particles than controls but with similar mean size and distribution of LDL subclasses. There were not differences in HDL number or size between FH and controls. Total triglycerides-rich lipoprotein particles (VLDL and chylomicrons) were also increased in FH versus controls, mainly due to an increased in small VLDL particles in FH, for this reason the mean VLDL particle size was smaller in FH than in controls (Table 2). The lipoproteins number, distribution and size were markedly different in FCH with respect to control and FH groups. FCH subjects presented higher number and larger sizes of VLDL particles than FH and controls; doubled number of LDL particles than controls and similar number of LDL than FH subjects, but with important differences in the distribution of the LDL particles with lower large LDL particles than FH and controls, but much higher number of all

small LDL particles. The number of HDL particles was similar in controls, FH and FCH groups, but FCH subjects significantly had lower number of large HDL particles and lower number of small HDL particles than control and FH subjects. Hence, HDL size was markedly reduced in FCH (Table 2).

Age and sex adjusted carotid IMT measurements were higher in FCH than in FH patients, but there was significant statistical difference only in the median of the maximum values of the six carotid segments (Table 3). FH and FCH patients had significantly higher carotid IMT than controls. This difference between FH and FCH patients and controls was significant in all the carotid segments except for the mean common carotid values in FH versus controls (data not shown). The distribution of the mean values of the maximum value of the six carotid segments by deciles of age and adjusted by gender in FH, FCH and controls is presented in Figure 1. IMT was higher in FH than in FCH patients and than in controls in youngest individuals. IMT in FCH patients reached FH values in the fourth decade of life, and from that age onwards FCH patients presented higher IMT than FH and controls. The distribution of mean maximum values in FH and controls shows that FH subjects have uniformly IMT enlargement from the second decade of life onwards. However, the same distribution in FCH subjects showed that carotid IMT is continuously increasing at a higher rate in each decade of life in comparison to FH and control groups (Figure 1).

Spearman correlation coefficients between carotid IMT measurements and lipoprotein number and size determined by NMR spectroscopy are presented in table 4. Among VLDL particles, only the number of small VLDL particles was significantly correlated with carotid IMT in controls and FH subjects, but it was not in the FCH group. The correlation of LDL particle number was different among groups. All LDL particles were positively and highly correlated with carotid IMT in controls, but only small LDL particles showed positive correlation with IMT

in the FH group. In this latter group there was a negative, although not significant, correlation between large LDL particle number and carotid IMT. As occurred for VLDL, there was not correlation of any type of LDL particles number in the FCH group. Large and medium-size HDL particle number were negatively correlated with carotid IMT in controls and FH subjects. In contrast, the number of small HDL particles was highly significantly and positively correlated with IMT measurements in control and FH groups. Again, no significant correlation of carotid IMT measurements was detected with HDL particle number in FCH. LDL and HDL mean lipoprotein size was negatively correlated with carotid IMT only in controls and FH subjects (Table 4).

The variables independently associated with the maximum IMT for the six carotid segments in each group are resumed in table 5. Age, gender male, tobacco consumption, systolic blood pressure, and non-HDL cholesterol were positively associated with carotid IMT in the multiple regression models in the three groups, but with larger intensity in the control group. Age was the variable strongest associated with all carotid IMT measurements in the three groups. When lipoprotein number or size determined by NMR spectroscopy were introduced in the analysis did not improve the IMT variation prediction obtained by more traditional risk factors with the exception of IDL particle number in the FH group, with a small increase in R^2 coefficient from 0.376 to 0.387 ($p=0.012$).

Discussion

Four conclusions from the results of our study can be outlined. Firstly, carotid IMT is enlarged in FH and FCH subjects with respect to controls since early in life and this enlargement is seen sooner in FH than in FCH. Our results fully support previous observations in FH, with almost identical differences in carotid IMT between cases and controls that those founded in a group of 79 FH from Norway (30). Wiegman A. et al studied 201 children heterozygous for FH and 80 unaffected siblings (both age ranges 8-18 years) and a significant deviation in carotid IMT was noted from age 12 years in affected children (31). We have not studied children, but our youngest FH group (18-20 years of age) already showed an increase in IMT with respect to controls which is further increase in the third decade of age (Figure 1). Previous carotid IMT in FCH are less uniform than in FH. One study did not find differences between 75 affected and 73 non-affected subjects coming from FCH families (23), another study found only marginal differences (25), and in two studies the differences were highly significant although only the common carotid segments were studied (22,26). This different results in FCH are probably due to the comparison groups, if nonaffected family members are used as control groups (23,25) then the differences are less evident than when controls came from healthy individuals (22,26) because the overlapping and misdiagnosis of affected and non-affected in FCH families are common (32,33). Our data indicate that all six carotid segments are enlarged in FCH, furthermore this enlargement was greater in FCH than in FH for the maximum carotid IMT.

Secondly, the carotid IMT difference between FH and FCH subjects versus controls remains throughout life in spite of extensive lipid lowering treatment in FH and FCH patients. This difference is quite constant between FH and controls, and it tends to increase in a constant rate in FCH from the fifth decade of life in comparison to controls. We have recently established in our population that mean and maximal carotid IMT in subjects without cardiovascular risk

factors increase 0.005 mm and 0.008 mm each year respectively (34). FH subjects presented mean and maximal carotid IMT 0.064 mm and 0.117 mm higher than controls, so the differences between controls and FH can be calculated in 13-14 years according to our model, and over 20 years in FCH subjects when they are over 50 years of age. Although this is not prospective study, our results highly suggest that carotid IMT enlargement in FCH begins latter than in FH, but progress at a higher speed than in FH probably due to a constellation of “difficult to treat” risk factors that tend to aggregate in these subjects at middle ages.

Thirdly, traditional CVD risk factors, especially age, gender, LDL cholesterol and systolic blood pressure explain 68% of carotid IMT variation in controls. However, the mechanisms of carotid enlargement seem more complex in FH and in FCH, because traditional risk factors barely explain one third of the variation in our study as previously reported (22,26). Interestingly, non-HDL cholesterol and HDL cholesterol, two important abnormal lipoproteins in FCH subjects, were not independently associated with carotid IMT in the multivariate analysis in our study.

Finally, lipoprotein particle number and size determined by NMR spectroscopy shows that FH subjects have more small VLDL and more LDL particles than controls but without differences in the relative number of particles in each categories. In other words, more particles but “normal” particles. However, FCH subjects also have more VLDL and LDL particles than controls, but they present a very different distribution of particles. FCH subjects present an absolute and relative increase in small LDL and HDL particles with respect to controls and FH. For example, the ratio large LDL/small LDL in controls and FH was 1.06 and 1.09 respectively, and 0.25 in FCH subjects. Hence, NMR spectroscopy could be very useful diagnostic tool for genetic hyperlipidemias. In contrast, lipoprotein particle number and size determined by NMR spectroscopy do not increase the power of traditional risk factors in the prediction of carotid

atherosclerosis in controls, FH and FCH subjects in our study. This observation is in agreement with large prospective studies in general population showing that the cardiovascular disease risk prediction associated with lipoprotein profiles evaluated by NMR was comparable but not superior to that of standard risk factors (35,36). To the best of our knowledge, this study is the first large comparison of associations of NMR-measured lipoproteins with standard lipids for predicting carotid atherosclerosis in FH and FCH.

In summary, carotid IMT is enlarged in FH and FCH subjects with respect to controls. This carotid IMT enlargement begins later in FCH than in FH, but progress at a higher speed. Traditional risk factors explain 68.5% of the carotid IMT variation in controls, but only 37% in FH and 35% in FCH. Among NMR lipoproteins, only intermediate-density lipoprotein number in FH increased carotid IMT prediction although with borderline significance.

References

1. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA*. 2001;285:2486-2497.
2. McCrindle BW, Urbina EM, Dennison BA, Jacobson MS, Steinberger J, Rocchini AP, Hayman LL, Daniels SR; American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee; American Heart Association Council of Cardiovascular Disease in the Young; American Heart Association Council on Cardiovascular Nursing. Drug therapy of high-risk lipid abnormalities in children and adolescents: a scientific statement from the American Heart Association Atherosclerosis, Hypertension, and Obesity in Youth Committee, Council of Cardiovascular Disease in the Young, with the Council on Cardiovascular Nursing. *Circulation*. 2007;115:1948-1967.
3. Genest JJ Jr, Martin-Munley SS, McNamara JR, Ordovas JM, Jenner J, Myers RH, Silberman SR, Wilson PW, Salem DN, Schaefer EJ. Familial lipoprotein disorders in patients with premature coronary artery disease. *Circulation*. 1992;85:2025-2033.
4. Patterson D, Slack J. Lipid abnormalities in male and female survivors of myocardial infarction and their first-degree relatives. *Lancet*. 1972;1:393-399.
5. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (Constituted by representatives of nine societies and by invited experts), Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, Dallongeville J, De Backer G, Ebrahim S, Gjelsvik B, Herrmann Lingen C, Hoes A, Humphries S, Knapton M, Perk J, Priori SG, Pyorala K, Reiner Z, Ruilope L, Sans-Menendez S, Scholte op Reimer W, Weissberg P, Wood D, Yarnell J, Zamorano JL; Other experts who

contributed to parts of the guidelines:, Walma E, Fitzgerald T, Cooney MT, Dudina A; European Society of Cardiology (ESC) Committee for Practice Guidelines (CPG), Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Funck-Brentano C, Filippatos G, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Hellemans I, Altiner A, Bonora E, Durrington PN, Fagard R, Giampaoli S, Hemingway H, Hakansson J, Kjeldsen SE, Larsen ML, Mancina G, Manolis AJ, Orth-Gomer K, Pedersen T, Rayner M, Ryden L, Sammut M, Schneiderman N, Stalenhoef AF, Tokgözoğlu L, Wiklund O, Zampelas A.

European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. *Eur Heart J*. 2007;28:2375-2414.

6. Huijgen R, Vissers MN, Defesche JC, Lansberg PJ, Kastelein JJ, Hutten BA. Familial hypercholesterolemia: current treatment and advances in management. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 2008;6:567-581.

7. Hopkins PN, Stephenson S, Wu LL, Riley WA, Xin Y, Hunt SC. Evaluation of coronary risk factors in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2001;87:547-553.

8. Junyent M, Gilabert R, Zambón D, Pocoví M, Mallén M, Cofán M, Núñez I, Civeira F, Tejedor D, Ros E. Femoral atherosclerosis in heterozygous familial hypercholesterolemia: influence of the genetic defect. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:580-586.

9. Van der Net JB, Janssens AC, Defesche JC, Kastelein JJ, Sijbrands EJ, Steyerberg EW. Usefulness of genetic polymorphisms and conventional risk factors to predict coronary heart disease in patients with familial hypercholesterolemia. *Am J Cardiol*. 2009;103:375-380.

10. Soljanlahti S, Autti T, Lauerma K, Raininko R, Keto P, Turtola H, Vuorio AF. Familial hypercholesterolemia patients treated with statins at no increased risk for intracranial vascular

lesions despite increased cholesterol burden and extracranial atherosclerosis. *Stroke*.

2005;36:1572-1574.

11. Coon H, Xin Y, Hopkins PN, Cawthon RM, Hasstedt SJ, Hunt SC. Upstream stimulatory factor 1 associated with familial combined hyperlipidemia, LDL cholesterol, and triglycerides.

Hum Genet. 2005;117:444-451.

12. Goldstein JL, Schrott HG, Hazzard WR, Bierman EL, Motulsky AG. Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J Clin Invest*. 1973;52:1544-1568.

13. Pauciullo P, Gentile M, Marotta G, Baiano A, Ubaldi S, Jossa F, Iannuzzo G, Faccenda F, Panico S, Rubba P. Small dense low-density lipoprotein in familial combined hyperlipidemia: Independent of metabolic syndrome and related to history of cardiovascular events.

Atherosclerosis. 2009;203:320-324.

14. Civeira F; International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia.

Atherosclerosis. 2004;173:55-68.

15. Minhas R, Humphries SE, Qureshi N, Neil HA; NICE Guideline Development Group.

Controversies in familial hypercholesterolaemia: recommendations of the NICE

Guideline Development Group for the identification and management of familial

hypercholesterolaemia. *Heart*. 2009;95:584-587.

16. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study

Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340:14-22.

17. Wendelhag I, Wiklund O, Wikstrand J. Atherosclerotic changes in the femoral and carotid arteries in familial hypercholesterolemia. Ultrasonographic assessment of intima-media thickness and plaque occurrence. *Arterioscler Thromb*. 1993;13:1404-1411.
18. Smilde TJ, van Wissen S, Wollersheim H, Trip MD, Kastelein JJ, Stalenhoef AF. Effect of aggressive versus conventional lipid lowering on atherosclerosis progression in familial hypercholesterolaemia (ASAP): a prospective, randomised, double-blind trial. *Lancet*. 2001;357:577-581
19. Kastelein JJ, van Leuven SI, Burgess L, Evans GW, Kuivenhoven JA, Barter PJ, Revkin JH, Grobbee DE, Riley WA, Shear CL, Duggan WT, Bots ML; RADIANCE 1 Investigators. Effect of torcetrapib on carotid atherosclerosis in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2007;356:1620-1630.
20. Kastelein JJ, Akdim F, Stroes ES, Zwinderman AH, Bots ML, Stalenhoef AF, Visseren FL, Sijbrands EJ, Trip MD, Stein EA, Gaudet D, Duivenvoorden R, Veltri EP, Marais AD, de Groot E; ENHANCE Investigators. Simvastatin with or without ezetimibe in familial hypercholesterolemia. *N Engl J Med*. 2008;358:1431-1443.
21. Meuwese MC, de Groot E, Duivenvoorden R, Trip MD, Ose L, Maritz FJ, Basart DC, Kastelein JJ, Habib R, Davidson MH, Zwinderman AH, Schwocho LR, Stein EA; CAPTIVATE Investigators. ACAT inhibition and progression of carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia: the CAPTIVATE randomized trial. *JAMA*. 2009;301:1131-1139.
22. Keulen ET, Kruijshoop M, Schaper NC, Hoeks AP, de Bruin TW. Increased intima-media thickness in familial combined hyperlipidemia associated with apolipoprotein B. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:283-288.
23. Liu ML, Ylitalo K, Nuotio I, Salonen R, Salonen JT, Taskinen MR. Association between carotid intima-media thickness and low-density lipoprotein size and susceptibility of low-density

lipoprotein to oxidation in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Stroke*. 2002;33:1255-1260.

24. Halenka M, Vaverkova H, Hutyra M, Karasek D, Slavik L, Novotny D, Krskova M. Detection of early atherosclerosis using the ultrasound parameter of the intima-media thickness of the common carotid artery in families with familial combined hyperlipidemia. *Int Angiol*. 2004;23:230-237.

25. ter Avest E, Holewijn S, Bredie SJ, Stalenhoef AF, de Graaf J. Remnant particles are the major determinant of an increased intima media thickness in patients with familial combined hyperlipidemia (FCH). *Atherosclerosis*. 2007;191:220-226.

26. Junyent M, Zambón D, Gilabert R, Cofán M, Núñez I, Ros E. Carotid atherosclerosis in familial combined hyperlipidemia associated with the APOB/APOA-I ratio. *Atherosclerosis*. 2008;197:740-746.

27. Gómez-Gerique JA, Gutiérrez-Fuentes JA, Montoya MT, Porres A, Rueda A, Avellaneda A, Rubio MA. Lipid profile of the Spanish population: the DRECE (diet and risk of cardiovascular disease in Spain) study. DRECE study group. *Med Clin (Barc)*. 1999;113:730-735.

28. Otvos JD. Measurement of lipoprotein subclass profiles by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Clin Lab*. 2002;48:171-180.

29. Festa A, Williams K, Hanley AJ, et al. Nuclear magnetic resonance lipoprotein abnormalities in prediabetic subjects in the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Circulation* 2005;111:3465-3472.

30. Tonstad S, Joakimsen O, Stensland-Bugge E, Ose L, Bønaa KH, Leren TP. Carotid intima-media thickness and plaque in patients with familial hypercholesterolaemia mutations and control subjects. *Eur J Clin Invest*. 1998;28:971-979.

31. Wiegman A, de Groot E, Hutten BA, Rodenburg J, Gort J, Bakker HD, Sijbrands EJ, Kastelein JJ. Arterial intima-media thickness in children heterozygous for familial hypercholesterolaemia. *Lancet*. 2004;363:369-370.
32. Veerkamp MJ, de Graaf J, Bredie SJ, Hendriks JC, Demacker PN, Stalenhoef AF. Diagnosis of familial combined hyperlipidemia based on lipid phenotype expression in 32 families: results of a 5-year follow-up study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:274-282.
33. McNeely MJ, Edwards KL, Marcovina SM, Brunzell JD, Motulsky AG, Austin MA. Lipoprotein and apolipoprotein abnormalities in familial combined hyperlipidemia: a 20-year prospective study. *Atherosclerosis*. 2001;159:471-481.
34. Jarauta E, Mateo-Gallego R, Bea A, Burillo E, Calmarza P, Civeira F. Carotid intima-media thickness in subjects without cardiovascular risk factors. *Rev Esp Cardiol*. 2009, in press.
35. Mora S, Otvos JD, Rifai N, Rosenson RS, Buring JE, Ridker PM. Lipoprotein particle profiles by nuclear magnetic resonance compared with standard lipids and apolipoproteins in predicting incident cardiovascular disease in women. *Circulation*. 2009;119:931-939.
36. Ingelsson E, Schaefer EJ, Contois JH, McNamara JR, Sullivan L, Keyes MJ, Pencina MJ, Schoonmaker C, Wilson PW, D'Agostino RB, Vasan RS. Clinical utility of different lipid measures for prediction of coronary heart disease in men and women. *JAMA*. 2007;298:776 – 785.

FIGURE LEGEND

Figure 1: Estimated mean values of carotid intima-media thickness according to age group in controls, FH and FCH subjects.

Table 1. Cardiovascular risk factors and lipid profile distribution according to diagnosis

Variable	Control	FH	FCH
	N = 200	N = 572	N = 250
Age (years)	45.5 ± 16.4 ^b	45.0 ± 13.6 ^c	48.9 ± 12.0
Sex (% male)	40.9 ^{a,b}	49.0 ^{a,c}	67.2
Smokers (%)			
Never	69.5 ^{a,b}	54.8 ^c	36.5
Current	13.5 ^{a,b}	23.7 ^c	26.6
Former	17.3 ^{a,b}	21.5 ^c	36.9
Systolic Blood Pressure (mm/Hg)	120 (110-130) ^{a,b}	127 (118-138) ^c	130 (121-141)
Diastolic Blood Pressure (mmHg)	73 (70-80) ^{a,b}	80 (70-85) ^c	82 (76-90)
Body Mass Index (Kg/m ²)	24.4 ± 3.42 ^b	25.3 ± 3.84 ^c	27.8 ± 3.16
Waist Circumference (cm)	85.4 ± 10.8 ^b	87.2 ± 12.1 ^c	96.3 ± 9.44
Metabolic Syndrome (%)	6.3 ^b	10.4 ^c	49.2
Hypertension (%)	2.1 ^{a,b}	18.6 ^c	28.7
Diabetes Mellitus (%)	0 ^{a,b}	2.8 ^c	8.2
Current Statin Therapy (%)	0 ^{a,b}	83.3 ^c	82.1
Family History of Premature CVD (%)	0 ^{a,b}	36.2	31.6
Cardiovascular Disease (%)	0 ^{a,b}	8.5 ^c	11.9

Total Cholesterol (mg/dL)	197 (173 -224) ^{a,b}	321 (290-368) ^c	290 (265-319)
LDL Cholesterol (mg/dL) [†]	127 (109-150) ^{a,b}	243 (212-293) ^c	199 (177-225)
HDL Cholesterol (mg/dL)	53 (44-66) ^b	52 (44-63) ^c	43 (35-52)
Non-HDL Cholesterol (mg/dL)	141 (120-167) ^{a,b}	266 (233-312) ^c	245 (222-277)
Triglycerides (mg/dL)	62 (44-90) ^{a,b}	99 (67-143) ^c	244 (194-342)
Apolipoprotein A1 (mg/dL)	152 ± 31.3 ^b	147 ± 31.9 ^c	140 ± 25.9
Apolipoprotein B (mg/dL)	99.8 ± 23.2 ^{a,b}	171 ± 39.4 ^c	156 ± 28.0
Lipoprotein (a) (mg/dL)	14.5 (6.79-40.6) ^{a,b}	29.0 (12.4-65.3) ^c	19.8 (6.44-51.9)
C Reactive Protein (mg/L)	1.45 (0.70-3.00) ^b	1.50 (0.50-3.00) ^c	2.30 (1.00-4.36)
Glucose (mg/dL)	88 (82-96) ^a	90 (83- 99) ^c	96 (89-108)

FH denotes familial hypercholesterolemia; FCH, familial combined hyperlipidemia; CVD, cardiovascular disease.

[†] A total of 78 subjects in the FCH group had missing values of LDL cholesterol because the Friedewald equation was inadequate to estimate LDL cholesterol (i.e., serum triglycerides ≥400 mg/dL).

^a denotes p<0.05 in the comparison of control and FH groups; ^b, p<0.05 in the comparison of control and FCH groups; ^c, p<0.05 in the comparison of FH and FCH groups.

Table 2. Lipoprotein Variables Determined by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.

	CONTROLS n=158	FH n=344	FCH n=190
Lipoprotein particle concentration			
Total VLDL and chylomicron particles (nmol/L)	55.0 ± 29.7 ^{a,b}	96.1 ± 51.9 ^c	132 ± 54.9
Large VLDL and chylomicrons particles (nmol/L)	0.94 ± 1.53 ^b	1.83 ± 4.96 ^c	9.43 ± 12.2
Medium VLDL particles (nmol/L)	16.8 ± 16.2 ^{a,b}	25.2 ± 28.8 ^c	62.2 ± 37.0
Small VLDL particles (nmol/L)	37.3 ± 18.5 ^{a,b}	69.1 ± 32.3 ^c	60.4 ± 30.1
Total LDL particles (nmol/L)	1154 ± 368 ^{a,b}	1952 ± 661	2006 ± 645
IDL particles (nmol/L)	32.8 ± 44.6 ^{a,b}	97.0 ± 83.7	103 ± 75.0
Large LDL particles (nmol/L)	576 ± 230 ^{a,b}	968 ± 404 ^c	385 ± 302
Small LDL particles (nmol/L)	545 ± 409 ^{a,b}	887 ± 784 ^c	1519 ± 731
Medium-small LDL (nmol/L)	108 ± 79.4 ^{a,b}	170 ± 154 ^c	301 ± 150
Very small LDL (nmol/L)	437 ± 331 ^{a,b}	717 ± 634 ^c	1218 ± 586
Total HDL particles (nmol/L)	30.5 ± 5.15	29.5 ± 6.05 ^c	30.6 ± 5.29
Large HDL particles (nmol/L)	8.10 ± 3.26 ^b	7.40 ± 3.82 ^c	3.88 ± 3.47
Medium HDL particles (nmol/L)	1.51 ± 2.50 ^{a,b}	1.18 ± 2.66 ^c	3.46 ± 4.13
Small HDL particles (nmol/L)	20.9 ± 5.06 ^b	20.9 ± 5.32 ^c	23.3 ± 5.38
Mean lipoprotein particle size			
VLDL size (nm)	45.7 ± 6.71 ^{a,b}	43.2 ± 9.11 ^c	50.8 ± 11.2

LDL size (nm)	21.6 ± 0.78 ^b	21.5 ± 0.90 ^c	20.3 ± 0.85
HDL size (nm)	9.18 ± 0.55 ^b	9.10 ± 0.58 ^c	8.57 ± 0.44
Calculated lipid concentration			
VLDL and chylomicron triglycerides (mg/dL)	51.2 ± 34.1 ^{a, b}	83.8 ± 74.7 ^c	197 ± 137
HDL cholesterol (mg/dL)	50.8 ± 13.2 ^{a, b}	47.7 ± 14.5 ^c	39.9 ± 11.3

Values are means ± SD. FH denotes familial hypercholesterolemia; FCH, familial combined hyperlipidemia; VLDL, very low-density lipoprotein; IDL, intermediate-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein.

^a, p<0.05 in the comparison of control and FH groups; ^b, p<0.05 in the comparison of control and FCH groups; ^c, p<0.05 in the comparison of FH and FCH groups. P values refer to Mann-Whitney U-test.

Table 3. Carotid IMT values after adjusting by age and gender according to diagnosis.

	Control	FH	FCH
	N= 200	N=572	N=250
Maximum IMT in any of the six carotid segments (mm)	1.115 (1.136-1.195) ^{a,b}	1.325 (1.279-1.375)	1.383 (1.308-1.458)
Maximum carotid IMT for the six artery segments (mm)	0.845 (0.794-0.896) ^{a,b}	0.972 (0.942-1.002) ^c	1.038 (0.990-1.086)
Mean carotid IMT for the six artery segments (mm)	0.673 (0.652-0.695) ^{a,b}	0.747 (0.734-0.759)	0.762 (0.741-0.782)

Data are presented as mean (95% confidence interval)). FH denotes familial hypercholesterolemia; FCH, familial combined hyperlipidemia; IMT, intima-media thickness; ^a p<0.05 in the comparison of control and FH groups; ^b , p<0.05 in the comparison of control and FCH groups; and ^c , p<0.05 in the comparison of FH and FCH groups.

Table 4. Univariate Spearman's correlation coefficient (ρ) between carotid intima-media thickness measurements and lipoprotein variables determined by nuclear magnetic resonance spectroscopy.

	Controls			Familial Hypercholesterolemia			Familial Combined Hyperlipidemia		
	Maximum IMT in any of the six carotid segments	Maximum IMT for the six artery segments	Mean IMT for the six artery segments	Maximum IMT in any of the six carotid segments	Maximum IMT for the six artery segments	Mean IMT for the six artery segments	Maximum IMT in any of the six carotid segments	Maximum IMT for the six artery segments	Mean IMT for the six artery segments
Number of particles									
Total VLDL and chylomicrons	0.209 *	0.226 **	0.255 **	0.130 *	0.145 **	0.146 **	-0.127	-0.120	-0.084
Large VLDL and chylomicrons	0.174 *	0.122	0.104	0.085	0.112 *	0.106	0.039	0.019	0.020
Medium VLDL	0.075	0.022	0.077	0.124 *	0.146 **	0.124 *	-0.072	-0.101	-0.082
Small VLDL	0.243 **	0.294 **	0.315 **	0.146 **	0.144 **	0.141 **	-0.128	-0.135	-0.100
Total LDL	0.447 **	0.459 **	0.461 **	0.130 *	0.139 *	0.114 *	0.034	0.021	0.016
IDL	0.158	0.158	0.180 *	0.120 *	0.110 *	0.120 *	-0.003	-0.016	-0.021

Large LDL	0.176 *	0.223 **	0.251 **	-0.032	-0.062	-0.082	-0.056	-0.019	0.016
Small LDL	0.261 **	0.244 **	0.211 **	0.123 *	0.153 **	0.149 **	0.033	0.008	-0.009
Medium-small LDL	0.265 **	0.241 **	0.211 **	0.119 *	0.145 **	0.147 **	0.030	-0.001	-0.020
Very small LDL	0.260 **	0.243 **	0.210 **	0.125 *	0.155 **	0.150 **	0.036	0.012	-0.007
Total HDL	0.263 **	0.255 **	0.267 **	0.184 **	0.204 **	0.205 **	-0.095	-0.066	-0.056
Large HDL	-0.096	-0.101	-0.087	-0.104	-0.135 *	-0.116 *	0.076	0.111	0.074
Medium HDL	-0.173 *	-0.180 *	-0.220 **	0.041	0.025	0.056	-0.116	-0.126	-0.101
Small HDL	0.341 **	0.337 **	0.339 **	0.254 **	0.296 **	0.268 **	0.080	0.064	0.044
Lipoprotein size									
VLDL size	-0.023	-0.068	-0.139	-0.010	0.006	0.005	0.111	0.097	0.110
LDL size	-0.150	-0.123	-0.092	-0.111 *	-0.139 *	-0.147 **	-0.051	-0.026	0.013
HDL size	-0.245 **	-0.236 **	-0.207 *	-0.167 **	-0.198 **	-0.176 **	-0.044	-0.003	0.016

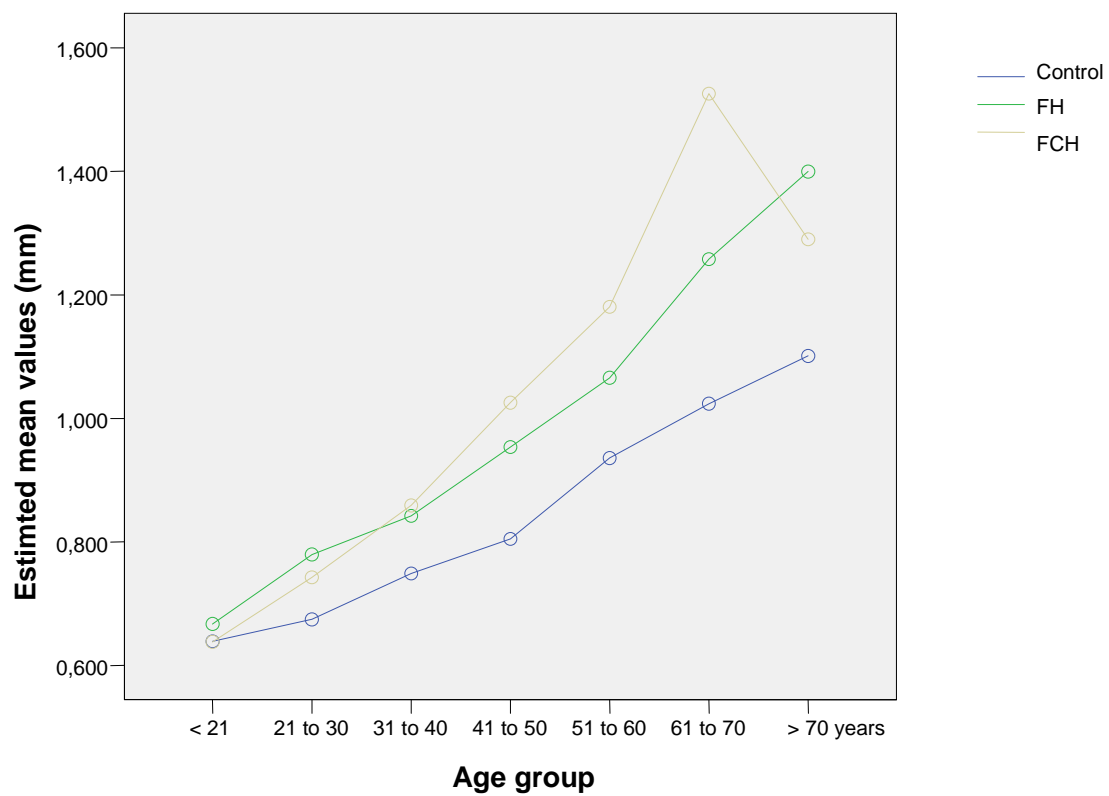
IMT denotes intima-media thickness; VLDL, very low-density lipoprotein; IDL, intermediate-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; HDL, high-density lipoprotein. * p<0.05; ** p<0.01.

Table 5. Variables independently associated with maximum carotid IMT by multivariate lineal regression analysis according to dislipidemia diagnosis.

	Controls			FH				FCH			
Variable	Beta	P	Adjusted R^2	Variable	Beta	P	Adjusted R^2	Variable	Beta	P	Adjusted R^2
Age	0.718	0.000	0.615	Age	0.506	0.000	0.295	Age	0.439	0.000	0.262
Sex	0.151	0.001	0.653	Sex	0.226	0.000	0.358	Tobacco consumption	0.186	0.002	0.313
Tobacco consumption	0.150	0.001	0.675	Non-HDL cholesterol	0.086	0.013	0.367	SBP	0.150	0.10	0.333
Non- HDL cholesterol	0.120	0.014	0.685	Tobacco consumption	0.083	0.018	0.372	Sex	0.131	0.021	0.347
				SBP	0.088	0.024	0.376				

Variables allowed to enter the model were those with p values <0.20 in the bivariate analysis (age, sex, tobacco consumption, systolic blood pressure, body mass index, family history of premature cardiovascular disease, triglycerides, non-HDL cholesterol, CRP and glucose.

Figure 1.



● Artículo 4

Junyent, M, Gilabert R, Jarauta E, Núñez I, Cofán M, Civeira F, Pocoví M,
Mallén M, Zambón D, Almagro F, Vega J, Tejedor D, Ros E

**Impact of low-density lipoprotein receptor mutational class on carotid
atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia**

Enviado a *Atherosclerosis*

Impact of low-density lipoprotein receptor mutational class on carotid atherosclerosis in patients with familial hypercholesterolemia

Authors: Mireia Junyent, MD, PhD*, Rosa Gilabert, MD, PhD†, Estíbaliz Jarauta, MD‡, Isabel Núñez, MD†, Montserrat Cofán, PhD*, Fernando Civeira, MD, PhD‡, Miguel Pocoví, PhD§, Miguel Mallén, PhD§, Daniel Zambón, MD, PhD*, Fátima Almagro, MD, PhD||, Juan Vega, MD¶, Diego Tejedor, PhD#, Emilio Ros, MD, PhD*

*Unitat de Lípids, Servei d'Endocrinologia i Nutrició, Institut d'Investigacions Biomèdiques August Pi i Sunyer (IDIBAPS), Hospital Clínic, Villarroel 160, 08036 Barcelona and Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Spain; †Centre de Diagnòstic per l'Imatge, IDIBAPS, Hospital Clínic, Barcelona and CIBEROBN, Spain; ‡Unidad de Lípidos y Laboratorio de Investigación Molecular, Hospital Universitario Miguel Servet, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, Spain; §Departamento de Bioquímica, Biología Molecular y Celular, Facultad de Ciencias, Universidad de Zaragoza, Zaragoza and Ciber de Enfermedades Raras (CIBERER), ISCIII, Spain; ||Servicio de Medicina Interna and ¶Servicio de Radiología, Hospital Donostia, San Sebastián, Spain; and #Progenika Biopharma S.A., Derio, Spain.

Correspondence to: Dr. Emilio Ros, Unitat de Lípids, Hospital Clínic, Villarroel 170, 08036 Barcelona, Spain. Tel. +34932279383. Fax. +34934537829. E-mail: eros@clinic.ub.es

Funding: This work was supported by grants from the Spanish Ministry of Health (RTIC G03/181, PI05/0075, PI05/0134, and PI06/0365) and Fundació Privada Catalana de Nutrició i Lípids, Barcelona, Spain. Mireia Junyent is supported by a Fulbright grant from the Spanish Ministry of Education and Science (reference 2007-1086).

Disclosures: Diego Tejedor is employed by Progenika Biopharma, the company that commercializes the microarray (Lipochip®) for genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in Spain. None of the other authors has any conflict of interest.

Short title: Carotid IMT in familial hypercholesterolemia

Word count: 5010

1 **Abstract**

2 **Objectives:** To investigate the influence of low-density lipoprotein receptor (*LDLR*) gene
3 mutational class on carotid intima-media thickness (IMT) in familial hypercholesterolemia (FH)
4 patients.

5 **Background:** The effects of *LDLR* mutation severity on both the risk for coronary heart
6 disease and its surrogate marker carotid IMT are insufficiently defined.

7 **Methods:** In 436 Spanish FH patients with known *LDLR* mutations, alleles were classified by
8 standard criteria as null (n=214), defective (n=190), or undetermined (n=32). *LDLR* defects were
9 screened by using a microarray (Lipochip®) designed to uncover prevalent mutations in Spain
10 and gene sequencing when necessary. IMT and plaque were sonographically assessed in all
11 carotid segments with a standard protocol.

12 **Results** In null-allele versus defective-allele comparisons, frequency of coronary heart disease
13 and tendon xanthomas was nonsignificantly higher, whereas untreated LDL-cholesterol was 9%
14 higher ($P<0.05$). After adjustment for various confounders, patients with null alleles compared
15 with defective alleles had similar mean and maximum common carotid IMT ($P>0.3$, both), but
16 higher maximum IMT at any carotid segment (1.35 ± 0.04 versus 1.20 ± 0.04 mm [SEM],
17 $P=0.005$). Multivariate analysis showed that null alleles were independently associated with
18 maximum IMT (regression coefficient = 0.15, $P = 0.011$) with an impact similar to that of
19 smoking (regression coefficient = 0.17, $P = 0.004$).

20 **Conclusions:** FH patients with null-allele mutations of the *LDLR* gene showed more
21 advanced carotid atherosclerosis than those with defective alleles, independently of lipid and
22 nonlipid risk factors. These findings support the utility of genetic testing in the diagnosis and
23 management of FH.

24 *Word count: 247*

25

1 **Abbreviations and acronyms**

2 BMI = body mass index

3 BP = blood pressure

4 CCA = common carotid artery

5 CHD = coronary heart disease

6 FH = familial hypercholesterolemia

7 HDL = high-density lipoprotein

8 IMT = intima-media thickness

9 LDL = low-density lipoprotein

10 LDLR = low-density lipoprotein receptor

11

INTRODUCTION

ERROR: undefinedresource
OFFENDING COMMAND: findresource

STACK:

/0
/CSA
/0
/CSA
-mark-