



Departamento de Medicina
Facultad de Medicina
Universidad Autónoma de Barcelona

**MARCADORES BIOQUÍMICOS DE LESIÓN
ENDOTELIAL, SISTEMA FIBRINOLÍTICO Y
MICROALBUMINURIA EN HTA ESENCIAL**

Autor: Natàlia Ramos Terrades
Directores: Alfons Segarra Medrano
Vicent Fonollosa i Pla
Tesis doctoral. 9 de Novembre 2010

Al Ferran
i al petit Arnau

Agraïments

Després de molt esforç ja he arribat al final d'un camí.

Vull acabar agraint a tothom la oportunitat de poder presentar aquest treball. Gràcies especialment a l'Alfons Segarra, que no només m'ha ajudat a portar a bon port aquest projecte si no també li haig d'agrair la generositat de cedir-me'l un cop ell l'havia començat. Igualment li haig de donar les gràcies per tot el suport i l'acompanyament que m'ha donat des de que era estudiant.

Pel que fa a aquesta tesis també haig d'agrair-li al Dr. Vicent Fonollosa totes les aportacions i correccions realitzades. I com no, als meus companys de feina, tant del servei de Nefrologia, com els dels altres serveis, que m'han ajudat a configurar la meva visió de la medicina concretament en el camp de la recerca.

Però igual d'important es la meva gent de fora de l'hospital. Tots els meus amics que han respectat la meva dedicació i que han estat al meu costat per recolzar-me, gràcies a l'Íngrid, la Sònia i el Manel, la Sandra, la Mònica i molts d'altres.

Vull agrair-li especialment als meus pares, Dolors i Enric, que sense ells, de segur que no hauria ni començat aquest viatge. També als meus germans, la Marta, la Cristina i sobretot l'Oriol que és el que més m'ha entès per haver passat pel mateix no fa gaire. Sense oblidar els meus sogres, la Dolors i el Josep, i el meu cunyat Xavier per tot el seu suport, sobretot pel que fa a tenir cura de l'Arnau sempre que ho he necessitat, sense aquest ajut hagués estat molt difícil arribar on he arribat.

Per acabar, vull fer menció especial al meu marit Ferran i al meu fill Arnau. Pel seu suport i comprensió en tot aquest procés, per les estones robades del seu costat, pel seu afecte i amor que m'han premés tirar endavant en tot moment. Sense ells, avui, aquesta feina no tindria el mateix valor.

A tots i totes, moltes gràcies.

ÍNDICE

Agraíments	iii
Índice de siglas	3
1.-INTRODUCCIÓN	5
1.1 Hipertensión como factor de riesgo cardiovascular	7
1.2 Teoría endotelial de la enfermedad vascular	9
1.2.1 Factores hemodinámicas	10
1.2.2 Estrés oxidativo	11
1.2.3 Dislipemia	12
1.2.4 Coagulación/fibrinólisis en la génesis de la enfermedad cardiovascular ateromatosa	20
1.2.5 Homocisteína	25
1.2.6 Inflamación	27
1.3 Marcadores de disfunción endotelial	28
1.3.1 Moléculas de adhesión	29
1.3.2 Moléculas derivadas del sistema fibrinolítico	30
1.3.3 Microalbuminuria	32
2.-HIPÓTESIS	35
3.-OBJETIVOS	39
4.-MATERIAL Y MÉTODOS	43
4.1 Pacientes	45
4.2 Procedimiento	46
4.3 Marcadores endoteliales	49
4.4 Definiciones	50
4.5 Definición de resultados	50
4.6 Análisis estadístico	51

5.-RESULTADOS	53
5.1 Estudio basal	
5.1.1 Descripción de variables	55
5.1.2 Prevalencia de complicaciones	59
5.1.3 Factores asociados a microalbuminuria	60
5.2 Seguimiento	
5.2.1 Evolución micro/microalbuminuria	61
5.2.2 Evolución glicemia	63
5.2.3 Tipo de tratamiento hipotensor y grado de control obtenido	65
5.2.4 Mortalidad	67
5.2.5 Morbilidad	68
6.-DISCUSIÓN	77
7.-CONCLUSIONES	97
8.-BIBLIOGRAFIA	101

Índice de siglas

ADA: American Diabetes Association

ADMA: Asymmetric dimethylarginine

AHA: American Heart Association

AIT: Accidente Vascular transitorio

ApoB: Apolipoproteína B

ARA II: Antagonista del Receptor de la Angiotensina II

ARIC: The Atherosclerosis Risk in Communities Study

ASCOT: Anglo-Scandinavian-Cardiac Outcomes trial

AVC: Accidente vascular cerebral

CV: Cardiovascular

ET-1: Endotelina 1

FA: Fibrilación auricular

FG: Filtrado glomerular

FPA: Fibrinopéptido A

FvW: Factor Von Willebrand

GE: Glicoproteínas endoteliales

HDL: High Density Lipoprotein

HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance

HOPE: Heart Outcomes Prevention Evaluation study

HOT: Hipertensión Optimal Treatment Study

HTA: Hipertensión arterial.

HVI: Hipertrofia Ventricular Izquierda

IAM: Infarto agudo de miocardio

ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular tipo 1

IDL: Intermediate Density Lipoprotein

IL-1: Interleuquina 1

IL-6: Interleuquina 6

IL-10: Interleuquina 10

IMC: Índice de Masa corporal

INF γ : Interferón gama

IECA: Inhibidor del enzima convertidor de la angiotensina

JNC VII: Joint National Committee VII

LDL: Low Density Lipoprotein

LDLox: LDL oxidadas

LIFE: Losartan Intervention for Endpoint Reduction Study

LOX-1: Receptor LDLox lecitinlike Tipo 1

LpA: Lipoproteína A

LpE: Lipoproteína E

LPL: Lipoprotein Lipasa

LRP: Proteína relacionada con el receptor LDL

MAPA: Monitorización ambulatoria de presión arterial

MCP-1: Proteína quimiotractante de monocito tipo 1

NADH: Nicotamida Adenina Dinucleotida reducida

NADHP: Nicotamida Adenina Dinucleotida Fosfato reducida

NO: Óxido Nítrico

NOS: Óxido Nítrico Sintetasa

PAI-1: Inhibidor de los activadores del plasminógeno tipo I

PCR: Proteína C reactiva

RENAAL: Reduction of endpoints in NIDDM with the Angiotensin II Antagonist
Losartan Study

TAT: Complejos Trombina- antitrombina

TG: Triglicéridos

TGF-β: Factor de crecimiento beta

TM: Trombomodulina

TNF: Factor Necrosis Tumoral

t-PA: Activador tisular de la plasmina

u-PA: Activador tipo urokinasa de la plasmina

VCAM-1: Molécula de adhesión vascular tipo 1

VitB6: Vitamina B 6

VitB12: Vitamina B 12

VLDL: Very Low Density Lipoprotein

1. - INTRODUCCIÓN

1.1 Hipertensión como factor de riesgo cardiovascular

La prevalencia en España de la hipertensión (HTA) en adultos de entre 35 y 65 años es de 45,1%. Existe una gran diferencia entre las regiones urbanas y rurales sobre el grado de conciencia entre la población general y por lo tanto de tratamiento y control. Sólo el 5% de la población general presenta un control óptimo de HTA. La prevalencia es mayor entre los hombres, en zonas rurales y aumenta con la edad (68,3% en pacientes mayores de 60 años)[1-3].

El control de la HTA disminuye en aquellas subpoblaciones de pacientes que presentan otros factores de riesgo: diabéticos, enfermedad vascular periférica, enfermedad renal. En estudios de prevención secundaria menos del 20% con cardiopatía isquémica tienen cifras inferiores a 130/85 [4-5].

Otro factor que influye en el grado de control es donde se realiza el seguimiento del paciente (centros de primaria o unidades hospitalarias de HTA). Las cifras reportadas en los diferentes estudios se encuentran entre el 5 y el 25% en centros de primaria y hasta de un 42% en unidades hospitalarias[4].

El creciente aumento en la morbimortalidad cardiovascular ocurrido en los últimos 30 años, ha motivado un interés progresivo en la identificación de factores riesgo y en políticas de prevención. En España, en un estudio realizado por Medrano de 5 años de evolución se observó una tasa de incidencia para cardiopatía isquémica ajustada por edad de 362 por cada 100000 persona-año para los varones y de 191 por cada 100000 persona-año en el caso de las mujeres con una mortalidad de 42.5 y de 25.8 por 100000 pacientes-año para hombres y mujeres respectivamente[6].

Uno de los primeros estudios realizados y de los más importantes, fue el estudio de Framingham que identificó una serie de factores de riesgo (tabaco, sexo, edad, dislipemia, HTA y diabetes mellitus) con los que se crearon las diferentes tablas que

posteriormente se utilizaron para realizar el cálculo de riesgo de padecer un evento cardiovascular. Se observó un aumento del riesgo de padecer cardiopatía isquémica en aquellos pacientes que se encontraban en el quintil alto de tensión arterial[7].

Así mismo los estudios realizados en España observan un riesgo atribuible a la HTA de 15,5-25% de las muertes de causa total y un 43% de las muertes de causa cardiovascular[7-9]. El riesgo de padecer eventos cerebrovasculares a los 10 años de evolución atribuible a HTA es del 19.6%. Siendo más alto en aquellos pacientes con HTA diagnosticada. Este incremento del riesgo probablemente tenga relación a que presentan más factores de riesgo y una mayor morbilidad que justifique el diagnóstico de la misma[10]. La mayor parte de los enfermos presentan un grado I según la clasificación de JNC VII [9-10].

En los estudios epidemiológicos más recientes, el riesgo atribuible a la HTA va disminuyendo. Puede ser debido a que exista cada vez más conciencia entre la población que derive en un mayor cumplimiento terapéutico y en consecuencia un mayor control de la misma [11]. Además de la HTA como precursor de arteriosclerosis [12], entre otros factores de riesgo clásicos, puede que existan otros procesos implicados en la formación de la placa de arteriosclerosis.

Entre los factores de riesgo emergentes no clásicos encontramos: las lipoproteínas, homocisteína, factores hemodinámicos, el stress oxidativo, alteraciones del sistema fibrinolítico y/o factores inflamatorios.

1.2 Teoría endotelial de la enfermedad vascular.

Hasta hace pocos años el endotelio se había descrito como la parte más interna de la pared vascular que estaba en contacto con la sangre. Actualmente se describe como un órgano complejo de gran tamaño [13]. Se le han atribuido diferentes funciones entre las cuales encontramos:

- Control vasomotor del árbol vascular
- Respuesta inflamatoria a procesos infecciosos
- Mantenimiento del equilibrio de la hemostasia.
- Control permeabilidad vascular
- Metabolismo de lipoproteínas

Tras diferentes agresiones se ha podido constatar alteraciones a nivel de estas funciones y como consecuencia la aparición de arteriosclerosis y aumento de la incidencia de enfermedades cardiovasculares.

En busca de nuevas explicaciones para la enfermedad arteriosclerótica se han realizado estudios desde las diferentes perspectivas, pero casi todas, dando como punto de partida la disfunción endotelial como paso previo a la formación de la placa arteriosclerótica y definiendo la arteriosclerosis como enfermedad inflamatoria sistémica [13-14].

Se han desarrollado distintas teorías para explicar la disfunción endotelial todas ellas relacionadas entre sí, pero tratadas desde diferentes puntos de vista en función del mecanismo implicado:

1.2.1 Factores hemodinámicos

El control vasomotor se realiza a través del equilibrio entre la acción del óxido nítrico (NO), que es la molécula con más efecto vasodilatador y la acción de endotelina-1, entre otras, con acción vasoconstrictora.

El control vaso-motor dependiente de endotelio se realiza a partir de NO. Éste se forma a partir de la NO sintetasa. En condiciones fisiológicas existen 2 isoformas: la endotelial (mayor predominio) y la neuronal. Una tercera isoforma, NOS inducible es expresada por células inflamatorias que participan en procesos inflamatorios vasculares [15]. La presión de rozamiento o la fuerza tangencial (shear stress) sobre la pared vascular constituye un estímulo para la liberación de óxido nítrico, provocando una vasodilatación directamente proporcional a la cantidad liberada del mismo, siempre y cuando exista integridad en la pared vascular. En presencia de HTA, dislipemia o cualquier situación inflamatoria se pierde la acción de NOS endotelial a favor de la acción de la NOS inducible, que se traduce en una pérdida de relajación vascular [15]. Ésta puede ser valorada por la respuesta motora tras infusión selectiva de acetilcolina.

El óxido nítrico participa en otras funciones como el mantenimiento de la agregabilidad plaquetar y contribuye al mantenimiento de la barrera microvascular disminuyendo la permeabilidad vascular, la inflamación y la formación de edema [16-18].

Así mismo, el shear stress también estimula la secreción de endotelina-1 (ET-1). Se trata de una hormona de acción paracrina de vida media corta (4-7 min) y se considera la molécula vasoconstrictora más potente.

Además del shear stress, la secreción de ET-1 está estimulada por catecolaminas, insulina, LDL oxidadas y trombina. Existen 2 receptores, el tipo A en el músculo liso vascular y miocitos. Su estimulación tiene entre otras consecuencias, la

inducción de hipertrofia ventricular izquierda. La estimulación de los receptores tipo B que se encuentra en las células endoteliales, participan en el rápido aclaramiento de la misma endotelina. Su acción es más potente en aquellos vasos dañados con pérdida de respuesta al NO [19].

Los factores hemodinámicos contribuyen a definir los lugares de formación de placas de ateroma. En aquellos en que por turbulencias, el flujo sanguíneo es menor, se facilita la adhesión de macrófagos y neutrófilos por aumento de expresión de las moléculas de adhesión a nivel endotelial. En cambio en aquellos lugares donde existen grandes flujos no hay expresión de dichas moléculas y por tanto no hay adhesión de macrófagos ni desarrollo de placas de ateroma posteriormente.

1.2.2 Estrés oxidativo

Como estrés oxidativo se entiende la situación en que los mecanismos defensivos antioxidantes están sobrepasados creándose un ambiente prooxidativo. Éste es generado por la aparición de radicales libres formados a partir de 3 vías:

- ruptura hemolítica de un enlace covalente de una molécula reteniendo cada fragmento, uno del par de electrones compartidos

- por la pérdida de un electrón

- por la adición de un electrón

De entre éstos radicales libres el de mayor importancia es el anión superóxido que se origina en la mitocondria y en las membranas celulares.

Nuestro organismo se defiende con el enzima superóxido dismutasa, la catalasa y el complejo glutatión peroxidasa-reductasa. Otros mecanismos antioxidantes no enzimáticos son las vitaminas A, C y E y el glutatión entre otros.

Existen diferentes fuentes de radicales libres, como son el tabaco, la homocisteína a partir de su rápida autooxidación y de la respuesta anómala del óxido nítrico, la activación de la NADH o NADHP oxidasa inducida por la angiotensina II o por el aumento de LDL, ya que ésta se une a óxido-nítrico sintetasa que además de sintetizar óxido nítrico genera radicales libres.

La respuesta endotelial que se observa tras el estrés oxidativo y que conlleva al desarrollo de la arteriosclerosis, es el crecimiento de la capa íntima, con un aumento de la migración de monocitos, probablemente secundaria al cambio de señales emitidas por el endotelio (p.e. aumento de la síntesis de MCP-1), la oxidación de LDL en el espacio subendotelial activaría los receptores scavenger de los macrófagos convirtiéndolos en células espumosas [20-21]. También se produce la oxidación de los fosfolípidos de las membranas de las células apoptóticas que estimulan tanto el proceso inflamatorio como promueven un estado protrombótico por disminución de la trombomodulina (TM), disminución del inhibidor de los activadores del plasminógeno tipo I (PAI-1), inhibidor del factor tisular, y aumento del factor tisular.

1.2.3. Dislipemia

a.) Estructura y función de lipoproteínas.

Para el transporte de colesterol y triglicéridos a través de un medio acuoso como el plasma es necesaria una molécula que tenga una parte hidrofóbica. Estas moléculas son las lipoproteínas que forman las microemulsiones responsables de la movilización de la inmensa mayoría de ellos a través del torrente circulatorio.

La mayoría de las lipoproteínas tienen forma de microesferas en las que clásicamente se han definido dos zonas, el core o corteza formada por compuestos de

naturaleza anfipática y un núcleo hidrófobo. En el ambiente hidrofóbico del núcleo viajan las moléculas hidrófobas como triglicéridos (TG) y colesterol esterificado.

Las lipoproteínas son partículas heterogéneas con estructuras y composiciones que dependen de su origen y función; se diferencian entre otras cosas por su contenido lipídico, proteico, tamaño y densidad; su nomenclatura se establece gracias a una de las principales propiedades, la densidad, y existen diversas formas para clasificarlas. Entre las lipoproteínas encontramos:

1.- Los **quilomicrones** son sintetizados en el intestino y tienen como misión el transporte de los lípidos de la dieta hasta la circulación sanguínea; tienen una vida media muy corta, inferior a una hora, y tradicionalmente no han sido considerados aterógenos, aunque este concepto está hoy día en discusión ya que el aumento de la lipemia postprandial se considera proaterógeno, y estudios realizados *in vitro* han demostrado que los quilomicrones residuales inducen la transformación de macrófagos en células espumosas[22].

2.-Las **VLDL** son sintetizadas en el hígado y son las encargadas del transporte de los triglicéridos de origen endógeno, su tamaño oscila entre los 30 y 80 nm y su vida media es de 2 a 4 horas; cuando existe un aumento en las concentraciones de VLDL, pueden producirse modificaciones de otras lipoproteínas como las LDL y HDL apareciendo un perfil lipoprotéico asociado a una elevada incidencia de enfermedad cardiovascular.

3.-Las **IDL** con una densidad intermedia entre ambas, se forma en el paso intermedio entre las partículas VLDL y LDL. Es conocida también con el nombre de VLDL residual o remanente y se caracteriza por su gran aterogenicidad.

4.-Las **LDL** son partículas que representan el final de esta etapa, son muy ricas en colesterol, y trasportan más del 70% de colesterol existente en el suero. Es considerada como la lipoproteína más aterógena, aunque para ello necesita sufrir una serie de modificaciones químicas, principalmente lipoperoxidativas.

5.-Las **HDL** están formadas por las lipoproteínas de mayor densidad y menor tamaño, encontrándose como principales componentes la HDL2 de menor densidad y con mayor proporción de colesterol, ésteres de colesterol y fosfolípidos que las HDL3 que tienen una proporción más alta de apolipoproteínas.

Dentro de esta familia se deben incluir también a unas lipopartículas de enorme interés como la LpA que contiene apo A y la LpE que contiene apolipoproteína E. Ésta última junto con la Lp A-I son consideradas antiaterógenas[23].

b.)Metabolismo

El transporte de lípidos se realiza en tres direcciones perfectamente diferenciadas: transporte de grasas exógenas, en el que interviene la familia de los quilomicrones, transporte de grasas endógenas, realizado por la familia VLDL-LDL y el transporte reverso – realizado por la familia de las HDL (Figura 1).

-Vía exógena del transporte de lípidos:

Los ácidos grasos procedentes de la hidrólisis intestinal de las micelas formadas por las grasas de la dieta y los componentes de la bilis se reesterifican en la pared intestinal dando lugar a la formación de triglicéridos, ésteres de colesterol y fosfolípidos que se incorporan a los quilomicrones, siendo secretados de esta forma a la circulación[24]; estas partículas sufren un proceso de maduración que les permite

adquirir las apolipoproteínas necesarias para su catabolismo; sus triglicéridos son degradados por la lipoproteína-lipasa (LPL) y se convierten en unas partículas denominadas quilomicrones residuales, los cuales al contener apolipoproteína E y algunas moléculas adheridas de LpL, son reconocidas por un tipo de receptores hepáticos que reciben el nombre de LRP (proteína relacionada con el receptor LDL).

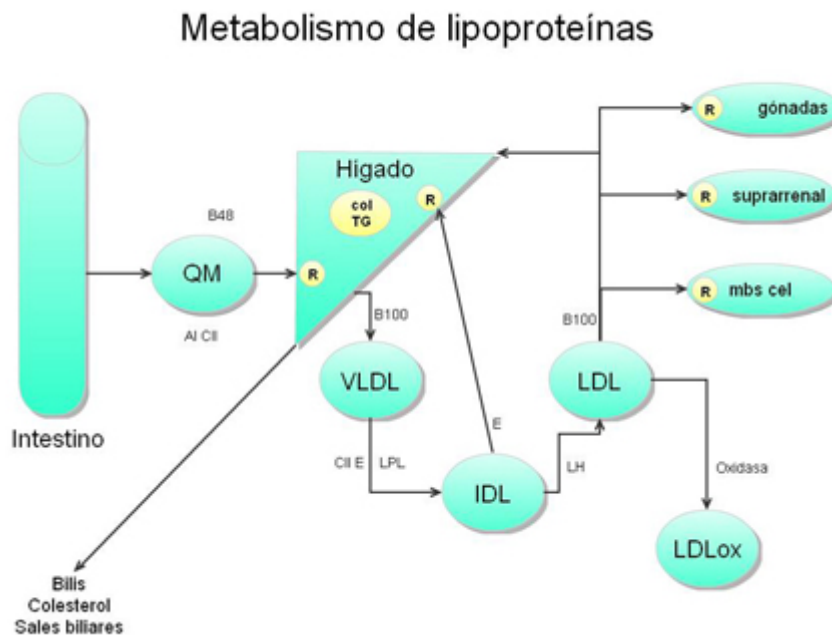


Figura 1. Metabolismo de lipoproteínas. Vía exógena y endógena de transporte de lípido

-Vía endógena del transporte de lípidos:

-Síntesis hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL).

Se inicia con la secreción por parte del hígado de unas lipoproteínas que conocemos con el nombre de VLDL, formadas por los lípidos hepáticos, apolipoproteína B-100 y pequeñas cantidades de apolipoproteína C y E, todas ellas sintetizadas en el hígado; son partículas ricas en triglicéridos y pobres en colesterol (relación 5/1 o superior) y constituyen un buen sustrato para la lipoproteína lipasa la

cual hidroliza progresivamente sus triglicéridos durante el tiempo en el que se mantienen en la circulación.

-Conversión de VLDL en lipoproteínas de baja densidad (LDL)

La hidrólisis continua de los triglicéridos por la LPL, reduce el contenido del mismo de las VLDL y las convierte en unas lipoproteínas residuales que reciben el nombre de IDL, más ricas en colesterol que las anteriores y con una relación triglicéridos/colesterol 2/1 (aunque es muy variable). Estas IDL pueden seguir dos caminos, o bien ser captadas por los receptores hepáticos de LDL (receptor apolipoproteína B-100: E), o ser convertidas en LDL.

El principal órgano responsable, pero no el único, de la degradación de las LDL es el hígado y procesa del 50 al 60% del colesterol que se encuentra en plasma en forma de LDL. Lo emplea en la síntesis de sales biliares secretando su exceso a través de la bilis, donde sufrirá circulación enterohepática. Le siguen las glándulas suprarrenales y las gónadas que lo utilizan como base en la síntesis de hormonas esteroideas. Las LDL son captadas por el receptor apolipoproteína B/E, y el colesterol esterificado se reparte entre la parte libre que se requiere en el interior celular. Parte del exceso de colesterol esterificado que se almacena se transfiere a las HDL [25-26]

Los receptores ApoB/E situados en los fibroblastos son los implicados en el catabolismo del colesterol. Cuando la interacción LDL-receptor es defectuosa, esta lipoproteína permanece más tiempo en el plasma, sufre modificaciones en su estructura y da lugar a las LDL oxidadas (LDLox), irreconocibles por su receptor específico y catabolizadas por un receptor especial llamado "scavenger" (depurador).

Esta vía del catabolismo es la que se considera implicada en el desarrollo de las células espumosas y en consecuencia en el proceso de la arteriosclerosis.

c.)Teoría lipídica de la aterosclerosis

La aterosclerosis se define como la lesión de la pared arterial debida a la formación de placas de ateroma en sus paredes, que se pueden revertir, no solo en su fase inicial, sino también, aunque más lentamente, en ciertas formas avanzadas.

La lesión se inicia en la íntima y presenta diferentes estadios según en consenso del Comité de lesiones vasculares (AHA) que comprenden:

- Estrías adiposas como lesión inicial.(Tipo I, II)
- Lesiones fibroadiposas como lesiones intermedias (Tipo III).
- Placas fibrosas como lesión avanzada o complicada [2] (Tipo IV, V, VI).

En su progresión se producen tres procesos celulares fundamentales:

Una entrada de monocitos/macrófagos con proliferación de macrófagos, células de músculo liso y quizás de linfocitos La formación de una matriz de tejido conjuntivo fibroso debido a la acumulación de las células de músculo liso Un almacenamiento de lípidos intra y extracelular, especialmente como colesterol libre y esterificado en los macrófagos y en las células musculares.

La estría adiposa está formada por macrófagos procedentes de los monocitos de la sangre que se transforman en células espumosas llenas de lípidos y se acompañan de linfocitos T (CD4+ y CD8+), representando una forma peculiar de respuesta inflamatoria crónica.

La lesión intermedia posee los mismos componentes pero más estructurados estando constituida por capas alternativas de células espumosas y de músculo liso con cantidades variables de tejido conjuntivo.

La lesión complicada tiene una morfología más compleja, con su superficie recubierta por una cápsula fibrosa. Debajo de ésta aparece un núcleo de material de macrófagos cargados de lípidos, células necróticas, desechos celulares, lípidos

extracelulares y según avanza la lesión, calcificaciones. Esta lesión hace que la porción más interna de la arteria sea más frágil y rígida además de disminuir su luz, lo que conlleva al posible origen de fenómenos tromboembólicos [27-28].

Todos los estudios actuales indican que existe una relación causal directa entre el desarrollo de la lesión y las altas concentraciones de lipoproteínas apoB que interaccionan con la íntima arterial, si bien existen otros procesos que actúan como coadyuvantes, como es el caso del estrés hemodinámico (*shear stress*), de procesos inflamatorios crónicos o de la homocisteinemia pero que en ausencia de la hiperlipemia se muestran insuficientes.

Estudios experimentales *in vitro* han demostrado la LDL del plasma no es capaz de inducir la formación de la placa de ateroma. Se precisa de transformaciones químicas como su oxidación y glicación no enzimática que originen un cambio en su conformación que conlleve a un diferente comportamiento metabólico[29].

La oxidación de las LDL no se debe sólo a la prolongada permanencia en el plasma sino que en algunos casos estas modificaciones pueden ocurrir cuando la capacidad oxidante celular está aumentada o cuando los mecanismos antioxidantes están saturados o sobrepasados.

Cuando las partículas son oxidadas, incluso mínimamente por la presencia de radicales libre (LDLox) o bien son glicosiladas de forma no enzimática, como ocurre cuando existen altas concentraciones de glucosa en sangre asociadas a la diabetes, aumentan su carga negativa y con ello se provoca su reconocimiento por receptores no regulables y relativamente inespecíficos como los scavengers de los macrófagos que están presentes en la íntima de las arterias, especialmente los receptores de tipo CD36, cuyo bloqueo farmacológico ha demostrado su capacidad de protección, incluso en las circunstancias más extremas de proaterogénesis [21]. Una vez dentro de los macrófagos,

estas concentraciones del colesterol libre se hacen citotóxicas y ello llevaría a la lisis celular. El macrófago se defiende reesterificándolo con ácidos grasos por medio del enzima colesterol aciltransferasa de modo que lo puede disolver junto con triglicéridos y fosfolípidos en vacuolas y así se transforma en las denominadas células espumosas.

Este fenómeno no se produce con la LDL normal que sigue la ruta del receptor apoB/E porque cuando la concentración en el exterior de las células es muy alta, éstas se protegen inhibiendo la síntesis del receptor, con lo que no penetran las partículas al citoplasma.

Esta solución tiene un carácter temporal, finalmente se acaba provocando su lisis y la correspondiente salida de grasa desde la célula espumosa con formación de los característicos centros necróticos de las placas de ateroma.

Recientemente se ha implicado un nuevo receptor, el LOX-1 (receptor de oxLDL lecitinlike 1) que es diferente a los receptores scavenger de los macrófagos en el proceso de la aterogénesis y la influencia que en éste tienen la angiotensina II y sus antagonistas. Dicho receptor es responsable de la captación de LDLox por la célula endotelial. Su expresión está mediada por la activación del receptor de la angiotensina II habiéndose observado como los fármacos que impiden la interacción angiotensina II-receptor AT1 tienen un efecto colateral beneficioso en la progresión de la placa de ateroma.

El proceso de oxidación de la LDL requiere de un determinado grosor en la íntima de la arteria para que de este modo aumente la posibilidad de que interactúe con el proteoglicanos de la misma[30].

Una vez asociados la LDL y los proteoglicanos, se forman agregados insolubles que dificultan su nuevo paso hacia el plasma y que presentan un mayor tamaño que las partículas originales. También se ha visto que la LDLox aumenta la quimiotaxi de los

monocitos al endotelio así como que puede dificultar la función de relajación de la musculatura vascular que ejerce el NO. Aumenta la secreción de diferentes citoquinas como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas o el factor de crecimiento básico de los fibroblastos a través de la estimulación de los macrófagos. Esta situación desarrolla un engrosamiento de la íntima aumentando la rigidez de la pared del vaso.

Posteriormente, bien por el propio crecimiento de la placa o por factores traumáticos sobre un endotelio rígido, se puede producir su ruptura, con lo que la placa fibrosa se expone al flujo circulatorio y con ello la formación de fenómenos trombóticos locales.

1.2.4 Coagulación/fibrinólisis en la génesis de la enfermedad vascular ateromatosa

La hemostasia es un sistema en constante equilibrio entre el sistema de coagulación y el proceso de fibrinólisis.

La coagulación es un proceso de reacción en cadena (Fig. 2) que se activa a través de 2 vías: la intrínseca que se inicia a partir del factor XII cuando se pone en contacto con superficies cargadas negativamente, peróxidos lipídicos o hiperhomocisteinemia, y la extrínseca que se encuentra en relación con el factor tisular generado cuando existe una lesión en el endotelio vascular y que se inicia con la activación del factor VII. El factor tisular es generado por cualquier agresión al endotelio, como ocurre en el caso de la peroxidación lipídica, la HTA, la hiperhomocisteinemia o ya en una fase mas avanzada en la ruptura de una placa de ateroma[31].

De estas vías la que más contribuye en la activación de la coagulación es la vía extrínseca que se inicia tras una lesión o trauma en el endotelio vascular.

Esta reacción en cadena de activación de factores de las diferentes vías, convergen en la activación de la protrombina (factor II) para convertirla en trombina, que su vez activa el fibrinógeno para convertir-lo en fibrina y formar así los coágulos de fibrina.

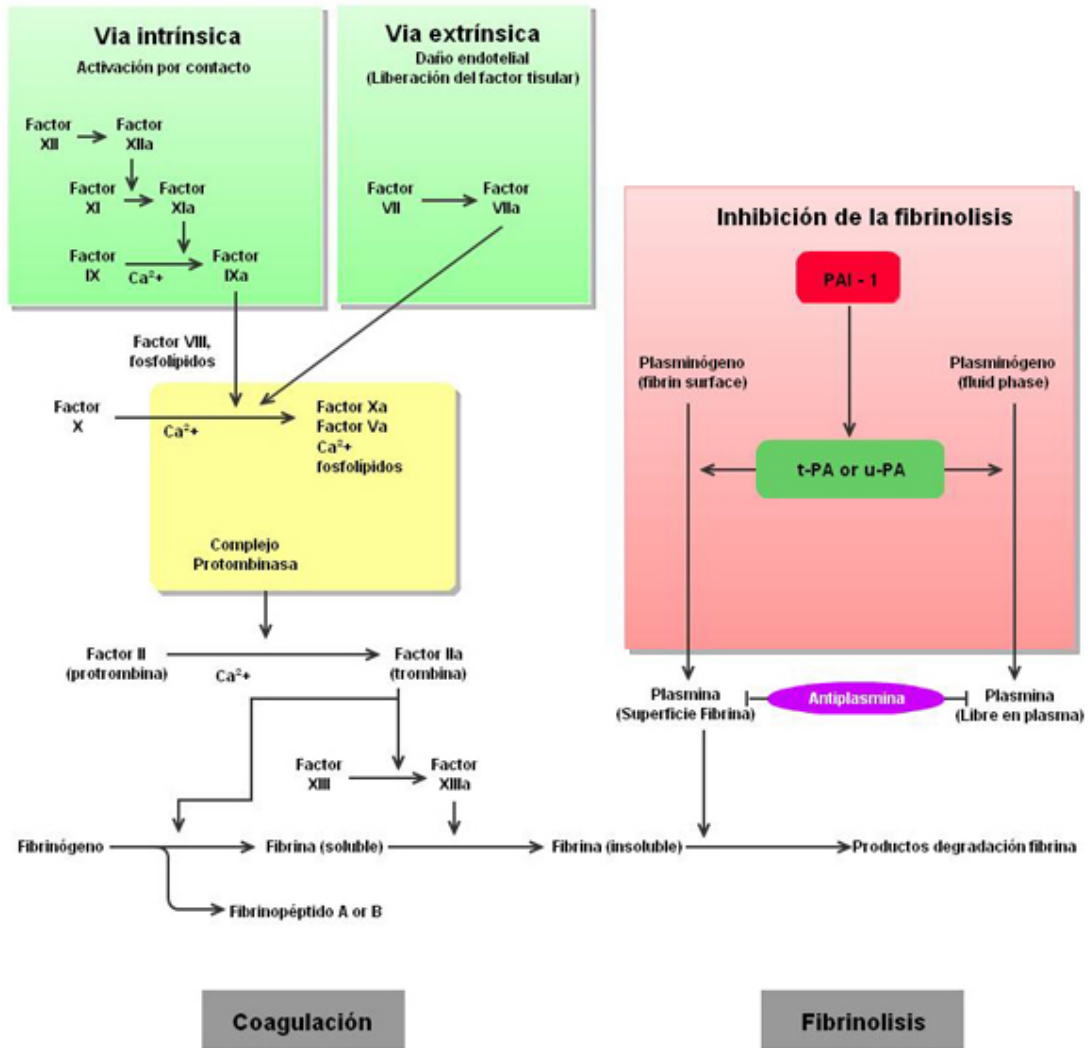


Fig. 2. Sistema de coagulación y fibrinólisis (Adaptado Franklin et al. NEJM June 2000)

La concentración máxima de trombina ocurre tras la formación del coágulo de fibrina.

La trombina se inactiva con la unión a la antitrombina III formando los complejos trombina antitrombina (TAT) que constituyen una medida indirecta de la formación de trombina y por lo tanto una medida de la activación de la coagulación.

Estos complejos son aclarados por el endotelio vascular, de manera que en caso de existir una disfunción del mismo existiría un aumento de concentración en la medida de los complejos TAT.

La trombina actúa como feedback positivo amplificando la cascada de coagulación a través de la activación de los factores VIII y V. El factor V se activa con la presencia de hiperhomocisteinemia[31].

Tras la activación del fibrinógeno obtenemos fibrina que requiere del factor XIIIa para acabar de formar el coágulo y finalizar el proceso de coagulación. En el paso de fibrinógeno a fibrina se liberan fibrinopéptido A y B (FPA y FPB) que nos sirven para medir la formación de fibrina *in vivo*[32].

La fibrinólisis consiste en diferentes mecanismos de anticoagulación dentro del sistema de hemostasia para mantener un equilibrio.

La degradación del coágulo de fibrina se realiza a través del complejo plasmina- α_2 antiplasmina en la superficie del coágulo, éste proceso se encuentra controlado por el PAI-1 que se une a dicho complejo.

El PAI-1 se encuentra influenciado por múltiples factores, de los más importantes son la glucosa y la insulina. Existe una elevada síntesis y secreción en pacientes con diabetes tipo II con resistencia a la insulina, que se reduce tras controlar la hiperglicemia y mucho más si se utiliza insulina en vez de sulfonilureas.

El papel cardioprotector atribuido a los estrógenos sería en parte al aumento de la fibrinólisis por presentar las pacientes premenopáusicas concentraciones bajas de PAI-1.

La angiotensina II parece estimular la producción de PAI-1 en cultivos de células endoteliales y de células de músculo liso vascular. Por lo que la disminución de producción de PAI-1 con la utilización de inhibidores de la enzima convertidor de angiotensina (IECA) podría ser un mecanismo por el cual estos fármacos son cardioprotectores.

El gen que codifica el PAI-1 se encuentra en el cromosoma 7 formado por nueve exones y ocho intrones, no obstante presenta múltiples polimorfismos. Se encuentra regulado al alza por el receptor situado por la región promotora adyacente a 4G/5G ante la presencia de VLDL y TG que es más sensible al genotipo 4G (homocigotos 4G/4G tienen un aumento del 25% en la concentración de PAI-1).

Existe un aumento de la expresión del mRNA de PAI-1 en presencia de LpA, aunque ésta viene condicionada genéticamente

La plasmina se activa a partir del plasminógeno gracias a la actividad del activador tisular de la plasmina (t-PA) o del activador tipo urokinasa de la plasmina (u-PA). En su forma libre es inhibido rápidamente por el PAI-1. Ésta es la proteína inhibitoria más importante en el control de la fibrinólisis con gran afinidad para el t-PA al que atrapa rápidamente si se encuentra en la forma libre en la circulación, dejando una pequeña proporción libre en el plasma. Por lo que el t-PA se une lo más rápidamente posible a plasminógeno formando el complejo t-PA-plasmina

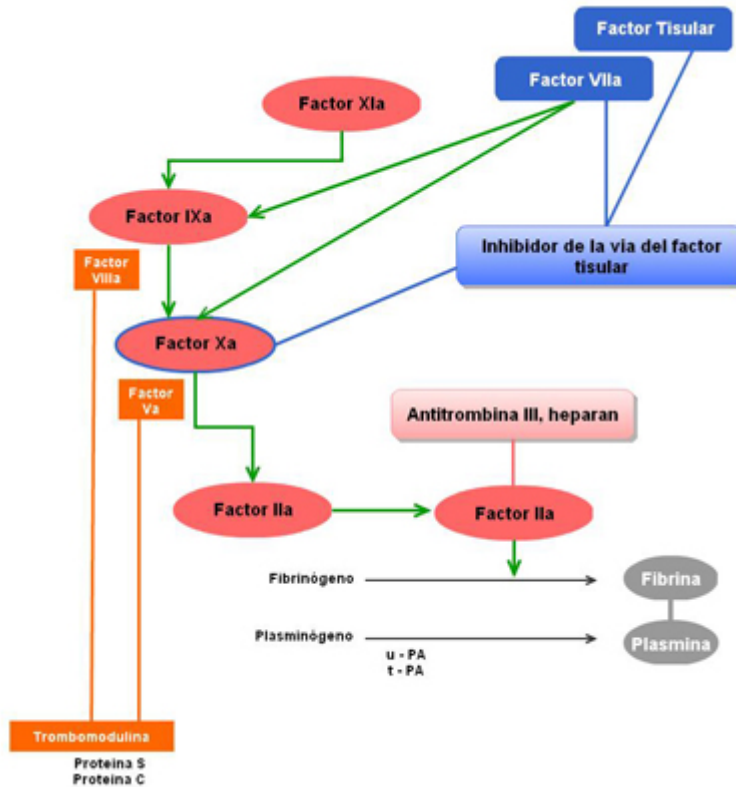


Fig. 3 Cascada coagulación. Adaptada Rosenberg et al (NEJM May 1999)

Así mismo, la unión de TM a las células endoteliales formando un complejo con la proteína C y S para desactivar el factor VIIIa y Va; junto con la potenciación de la heparina a nivel de la antitrombina III son otros mecanismos para mantener en equilibrio entre la fibrinólisis y la coagulación (Fig. 3). A nivel de la TM actúan diferentes mecanismos de la disfunción endotelial, como son la hiperhomocisteinemia o los fosfolípidos oxidados de las membranas de las células apoptóticas.

1.2.5. Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido que se origina a partir de la desmetilación sucesiva de la metionina. Se metaboliza a través de 3 vías:

- remetilación a metionina dependiente del ciclo del folato (la más importante)
- remetilación a metionina independiente del ciclo del folato
- transulfuración a cisteína.

En 1969 Mc Cully describió la asociación entre la hiperhomocisteinemia y la enfermedad cardiovascular. Avalada por múltiples estudios realizados desde entonces[33-36].

La prevalencia de la hiperhomocisteinemia en la población general se encuentra entre el 5 y el 7%[37].

La hiperhomocisteinemia se clasifica en función de los niveles plasmáticos en moderada (15-30 $\mu\text{mol/l}$), intermedio (30-100 $\mu\text{mol/l}$) y severo ($>100 \mu\text{mol/l}$)[37].

Como causas de hiperhomocisteinemia se encuentran:

-genéticas, por déficit enzimático de alguno de los pasos de su metabolismo. La severidad del mismo dependerá de si el déficit es heterocigoto u homocigoto.

-hipovitaminosis (ác fólico, vitB6 o vitB12)

Existen algunas enfermedades como el hipotiroidismo, la anemia perniciosa, algunos carcinomas o la insuficiencia renal crónica se asocian a hiperhomocisteinemia[38].

A pesar de no saber con exactitud como la homocisteína daña el endotelio existen diferentes mecanismos en que esta se encuentra involucrada:

-Promueve el **daño oxidativo** [37, 39-41]. La homocisteína en el plasma presenta una rápida auto-oxidación formando homocisteína y homocisteína thiolactone junto con potentes radicales libres como el peróxido de hidrógeno. Estos radicales libres aumentan la peroxidación lipídica, sobretodo de la oxidación de LDL formando células espumosas, así como inductor de la proliferación de la capa muscular lisa vascular.

-Aumenta **estado procoagulante** por:

-aumento de la actividad procoagulante por aumento de la activación del factor V y XII[42-43]

-Inhibe la expresión de TM, induce la expresión de factor tisular y suprime la expresión de heparan-sulfato por el endotelio[44-46].

-Favorece la **formación de trombos plaquetares** por aumento de la adhesión y la agregabilidad plaquetar.

-**proliferación de la capa muscular lisa vascular** [47] a través de la activación del factor de transcripción NF- κ B. También presentan aumento de la matriz subendotelial por acumulación de sulfato-glicosaminoglicanos, así como aumento de la actividad de la elastasa como el aumento de los depósitos de calcio.

-**respuesta anómala del óxido nítrico**[48]. Inicialmente se homocisteína se detoxifica con la liberación de óxido nítrico y formando S-nitroso-homocisteína que actuaba como inhibidor plaquetar y vasodilatador. Los niveles elevados a largo plazo de homocisteína aumentan la oxidación, el daño endotelial perdiendo la capacidad de liberar óxido nítrico y disminuyendo la capacidad de detoxificar por el mismo endotelio la homocisteína.

1.2.6 Inflamación

La arteriosclerosis se trata de un proceso inflamatorio crónico[13-14]. En la estría grasa ya encontramos infiltración de monocitos y linfocitos T. El proceso inflamatorio se inicia tras múltiples agresiones sobre el endotelio como son el aumento de LDL y la oxidación del mismo, aumento de niveles de angiotensina II, hiperhomocisteinemia, glicación no enzimática de LDL o infección por *C. pneumoniae* o del grupo herpes virus[13], que junto con aumento de la turbulencia de la circulación promueve aumento de la trascrición de integrinas y moléculas de adhesión por parte de las células endoteliales[49]. Lo primero que ocurre es la activación de las plaquetas que al entrar en contacto las glicoproteinas Ib y IIb/IIIa con las células endoteliales aumentan la activación del endotelio y la secreción de citoquinas así como los factores de crecimiento que promueven la adhesión de los leucocitos al endotelio y el aumento de la permeabilidad vascular. La activación de las plaquetas deriva en la formación de ácido araquidónico y éste a su vez en tromboxano A (potente vasoconstrictor) y leucotrienos que aumentan la respuesta inflamatoria[50-51].

De la misma manera, se aumenta la permeabilidad de los monocitos hacia el espacio subendotelial, donde se convierten en macrófagos y éstos a su vez, a través de los receptores scavenger se convierten en células espumosas, al no poder degradar las LDL oxidadas. Esta célula espumosa acaba entrando en apoptosis, participando en la formación de centros necróticos característicos de las placas complicadas.

En la progresión de la lesión intervienen la proliferación y migración de células de la musculatura lisa vascular así como aumento de la matriz por depósitos de proteoglicanos y depósitos de calcio. La activación de los macrófagos genera producción de metaloproteinasas (enzimas proteolíticos) responsables en parte de la

migración de las células musculares lisas hacia la íntima y de la ruptura de la placa[13, 52-54].

Del sistema inmunitario encontramos sobretodo infiltración de linfocitos T CD4 del tipo Th1, responsables de la activación de macrófagos a través del INF γ [55]. Este interferón γ mejora a su vez la eficiencia de presentación de antígenos así como la secreción de citoquinas como el factor de necrosis tumoral (TNF) y la IL-1. La IL-1 estimula la secreción de IL-6 y esta actúa a nivel sistémico estimulando la formación de PCR y otros reactantes de fase aguda. Toda esta cascada inflamatoria es contraregulada por otros linfocitos T que generan citoquinas antiinflamatorias como IL-10 y TGF- β [56].

Excepto la IL-6 y PCR que tienen una acción sistémica, la mayoría de las moléculas tienen acciones autocrinas y paracrinas, de manera que sus niveles son difíciles de interpretar. No obstante su papel ha sido ampliamente demostrado en diferentes estudios, por ejemplo en aquellos que se ha bloqueado el INF γ dando como resultado un bloqueo en el desarrollo de la arteriosclerosis[56].

1.3. Marcadores de disfunción endotelial.

Tras ver las diferentes funciones que presenta el endotelio y las diferentes formas de agresión por el cual es dañado, se ha centrado la atención en la identificación de biomarcadores que permitan detectar y cuantificar la presencia de disfunción endotelial in vivo y de forma no invasiva.

De entre las diferentes moléculas descritas en la disfunción endotelial encontramos:

-Moléculas de adhesión. ICAM-1, VCAM-1

-Moléculas derivadas del sistema fibrinolítico. TM, PAI-1, TPA, FPA, complejos TPA/PAI-1, complejos TAT

-Microalbuminuria

1.3.1. Moléculas de adhesión

Se ha observado en diferentes estudios niveles séricos aumentados en pacientes con insuficiencia renal de ADMA o de moléculas de adhesión (ICAM-1, V-CAM) [57-58]. A pesar de que los enfermos con insuficiencia renal son los enfermos que presentan estos marcadores de activación endotelial más aumentados, es cierto que los pacientes hipertensos también presentaban valores más elevados respecto a los controles sanos[59].

Diferentes marcadores de endotelio se han estudiado como posibles marcadores de enfermedad cardiovascular, como por ejemplo las moléculas de adhesión V-CAM e I-CAM, Malik publicó en el 2001 un metanálisis observaron una correlación con reactantes de fase aguda como PCR o FvW tras ajustar por edad, sexo, tabaco u otras variables[60]. Karasek encontró un aumento de I-CAM sérico en pacientes con hiperlipidemia familiar respecto a controles sanos. Esta relación no la encontró para V-CAM[61].

En un estudio realizado por Ferri, se clasificaron a los enfermos hipertensos en sal-sensible y sal resistente[62]. En ninguno de los dos grupos encontraron diferencias en relación a los niveles séricos de V-CAM y I-CAM. No obstante si hallaron diferencias significativas en los niveles de ET-1, FvW y microalbuminuria, siendo más elevados en los pacientes hipertensos sal-sensibles; es decir este grupo de enfermos tenía más riesgo de padecer enfermedad cardiovascular.

1.3.2. Moléculas derivadas del sistema fibrinolítico

Las complicaciones hemorrágicas o trombóticas tienen como base patología que afecta cualquier de los mecanismos que estén implicados en la hemostasia, sea de origen congénito o adquirido.

De la misma manera que la coagulación se activa cuando existe daño en la pared vascular, ésta se activa con la presencia de placas de ateroma.

Existen diferentes estudios publicados que muestran alteraciones del sistema de la hemostasia en presencia de enfermedad cardiovascular. No obstante los resultados son controvertidos debido que la hemostasia se encuentra muy influenciada por diferentes procesos (fisiológicos o patológicos).

En el estudio prospectivo de Northwick Park Heart Study se halló una fuerte correlación entre la disminución de actividad fibrinolítica y la incidencia de patología isquémica coronaria en hombres jóvenes. Se halló relación estrecha entre niveles elevados de actividad del PAI -1 y de antígeno de PAI-1 con aumento de la incidencia de nuevos episodios coronarios en pacientes con angina. En el estudio multicéntrico y prospectivo European Concerted Action on Trombosis and Disabilities, no obstante esta relación desaparecía al ajustar-se por variables relacionadas con la resistencia a la insulina.

En cambio Thorgerser describió en población sueca con alta prevalencia de enfermedad coronaria, que niveles elevados de PAI-1 eran predictores de un primer episodio de infarto agudo de miocardio.

Se han realizado múltiples estudios que ponen de manifiesto que en presencia de resistencia a la insulina, hipertrigliceridemia y aumento de VLDL, la población con genotipo 4G presenta más riesgo de padecer enfermedad coronaria, y dentro de la

población de riesgo los estudios angiográficos muestran más severidad de las lesiones o placas de ateroma.

En el estudio MONICA[63], en el que participaron 2000 sujetos, se observó una fuerte relación en el análisis de regresión múltiple entre valores elevados de insulina (en ayunas) con baja actividad del t-PA. Esta correlación era mayor en pacientes mujeres menopáusicas que en las premenopáusicas. También se halló relación con los niveles de PAI-1 pero estos mostraron más variabilidad en relación al nivel de TG, cifras de tensión arterial y la edad.

Se observó que las medidas de marcadores de fibrinólisis variaban en función de las condiciones de extracción.

En relación al nivel de fibrinógeno no se halló correlación con el nivel de glucosa y insulina en ayunas, a excepción de las mujeres posmenopáusicas.

Lowe encontró una fuerte correlación ($p < 0,0001$) entre el quintil alto de D-dímero y la incidencia de cardiopatía isquémica en hombres[64]. Refieren los niveles de D-dímero como marcador de formación de fibrina y explican que las diferencias con otros estudios son debidas a diferencias metodológicas entre los diferentes ensayos. No obstante si tenemos en cuenta que es un producto de degradación de la fibrina, no sólo sería un marcador de la formación de ésta sino de actividad fibrinolítica, y ésta se encontraría disminuida en los pacientes de riesgo.

Ender, en un estudio de casos-control con 169 pacientes con HTA leve-moderada no tratada y sin complicaciones, hallaron niveles plasmáticos elevados de FvW, fibrinógeno, aumento de la agregabilidad de las plaquetas inducida por ADP así como aumento del número de éstas. El aumento de FvW lo atribuyeron a la existencia de daño vascular[65].

1.3.3. Microalbuminuria

En 1981 se definió como microalbuminuria las concentraciones de albúmina que no eran detectadas por las tiras reactivas en aquellos pacientes diabéticos que posteriormente desarrollaban nefropatía con proteinuria severa. Inicialmente su estudio se realizó sobre pacientes diabéticos y fue en 1984 [66] que demostraron aumento de la morbimortalidad cardiovascular con niveles bajos de microalbuminuria en pacientes diabéticos. Al final de la década de 1980 se pone de manifiesto que la presencia de microalbuminuria en pacientes no-diabéticos también presenta un riesgo elevado para enfermedad cardiovascular.

La prevalencia de la microalbuminuria se encuentra entre el 5 y el 40% de los pacientes hipertensos según la edad y la etnia a que se haga referencia. No obstante la mayoría de los estudios la sitúan entre el 8-15% de los pacientes hipertensos no diabéticos[67]. Ésta variabilidad depende de las características de la población estudiada, como mayor sea la media de edad de la muestra estudiada mayor es la prevalencia de la microalbuminuria. También influye la técnica y la metodología utilizada para medir la microalbuminuria.

Tras encontrar la relación entre microalbuminuria y enfermedad cardiovascular, inicialmente se trató como factor de riesgo cardiovascular, no obstante valdría la pena señalar que se trata de un marcador de riesgo cardiovascular, es decir, como medida de daño endotelial. Representa una traducción del aumento de permeabilidad de la pared vascular debida a disfunción endotelial, resistencia a la insulina, aumento de la presión intraglomerular en relación al grado de HTA, síndrome metabólico, obesidad, dislipemia o enfermedad renal.. El grado de proteinuria también se encuentra influenciado por la acción paracrina realizada por las células del mesangio y de los

podocitos así como la síntesis de proteoglicanos implicados también en el mantenimiento de la barrera glomerular.

Tradicionalmente se establecieron niveles de corte para definir y clasificar a los pacientes como normales ($<30\text{mg}/24\text{h}$), microalbuminuria ($30\text{-}300\text{mg}/24\text{h}$) o macroalbuminuria ($>300\text{mg}/24\text{h}$). Según estos niveles también se clasificaban a los pacientes, de menos a más, según el riesgo de padecer un evento cardiovascular. No obstante se ha podido observar en diferentes estudios como el Framingham Heart Study, el HOPE o el LIFE, que pacientes con niveles bajos de albuminuria considerados normales presentaban riesgo cardiovascular, por lo que se debería tener en cuenta como variable continua[68].

En un inicio, se centro la atención en pacientes diabéticos para estudiar el porqué de la aparición de microalbuminuria y su relación con la enfermedad cardiovascular, como el estudio RENAAL que puso de manifiesto que la reducción del 50% de la microalbuminuria representaba una reducción del 18% del riesgo cardiovascular y de aumento de supervivencia renal.

Posteriormente se han realizado estudios de microalbuminuria en población general, sobretodo de carácter epidemiológico como son los trabajos de Konta e Irie[69-70] .

Caglar relacionan la presencia de proteinuria con el ADMA, como marcador de disfunción endotelial e inflamación en pacientes sin historia de enfermedad cardiovascular, ni HTA, ni DM, ni obesidad. Todos ellos presentan proteinuria franca secundaria a enfermedad renal demostrada por biopsia. También presentaban resistencia a la insulina con aumento de los índices HOMA-IR en función de la severidad de proteinuria[71].

Finalmente existen diferentes trabajos que ponen de manifiesto la relación entre los pacientes HTA y microalbuminuria. Parving fue uno de los primeros en poner de manifiesto dicha relación [72]. Jalal encontró una prevalencia del 37% de los pacientes hipertensos estudiados y presentando una correlación positiva con el grado de control de la HTA [73]. En el estudio LIFE o en el HOT que valoraron la proteinuria como marcador de riesgo cardiovascular así como el papel de los ARA II como tratamiento antihipertensivo y su repercusión sobre la aparición de eventos cardiovasculares. Henareh mostró asociación entre microalbuminuria y aumento de la íntima en pacientes con enfermedad cardíaca previa [74].

2. - HIPÓTESIS

Dado que conocemos cual es el proceso de la enfermedad arteriosclerótica y que la lesión primaria se sitúa en la disfunción del endotelio es lógico buscar en primer lugar nuevas variables (moléculas de adhesión, moléculas derivadas de la coagulación, de la fibrinólisis entre otros) que sean útiles como biomarcadores del proceso de lesión del endotelio y se puedan utilizar como nuevos factores de riesgo de enfermedad cardiovascular.

En segundo lugar, poder medir a través de la presencia de microalbuminuria la existencia de lesión endotelial. Sin embargo a pesar de que existe una buena correlación en diferentes estudios entre enfermedad cardiovascular y microalbuminuria, existe la posibilidad de que la microalbuminuria tenga otros orígenes. Actualmente un paciente concreto con microalbuminuria, se puede distinguir el origen de la misma si presenta enfermedad vascular obvia concomitante. Tampoco se puede asegurar que todo paciente con microalbuminuria presenta un aumento del riesgo cardiovascular, ya que ésta podría ser residual de un proceso glomerular previo. Por todo ello en el caso de que la microalbuminuria se deba a daño endotelial, ésta debería estar en relación con las variables que actúen como biomarcadores de lesión endotelial.

3. - OBJETIVOS

- 1) Analizar si existe relación entre el nivel circulante de moléculas de origen endotelial ICAM-1 y TM con microalbuminuria y la presencia de complicaciones de órganos diana, en pacientes con HTA esencial, sin enfermedad vascular clínica.
- 2) Realizar estudio in vivo del sistema fibrinolítico mediante la determinación de los niveles circulantes de PAI-1, TPA-1, complejos TPA/PAI-1, FPA, complejos TAT y D-dímero y analizar su relación con complicaciones de órganos diana en el mismo grupo de enfermos
- 3) Determinar si el nivel circulante de ICAM-1, TM, PAI-1, TPA-1, los complejos TPA/PAI-1, FPA, complejos TAT y D-dímero son predictores independientes de morbilidad cardiovascular en el mismo grupo de enfermos.

4.- MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Pacientes

Se realizó estudio de cohorte prospectivo de 11 años de seguimiento en hospital universitario de referencia. Participaron 351 pacientes diagnosticados de HTA esencial, las directrices propuestas por el Sixth Report of the Joint National Committee para la prevención, detección y evaluación de la hipertensión arterial, reclutados en las CCEE de Nefrología, donde habían sido remitidos para estudio de HTA no complicada. Los criterios de inclusión fueron: 1) la ausencia de etiología secundaria tras haber realizado el estudio sistemático (tabla 1), 2) ausencia de antecedentes previos de enfermedad cardiovascular clínica; 3) no tratamiento previo o posibilidad de blanqueo durante 2 semanas; 4) ausencia de crisis hipertensivas previas con encefalopatía o insuficiencia cardíaca y 5) ausencia de criterios de HTA maligna (fondo de ojo normal)

- 1.-Historia clínica exhaustiva
- 2.-Exploración física completa
- 3.-Analítica general con orina 24h
- 4.-Ecografía renal más doppler arterias renales y angioTC abdominal si procede
- 5.-Estudio hormonal específico según clínica y EF (ACTH, cortisol (s/o), aldosterona, ARP, catecolaminas...)
- 6.-Ecocardiograma
- 7.-Polisomnografía si HC o EF sugestiva

Tabla 1. Estudio sistemático de HTA. EF: Exploración física. ACTH: Hormona adrenocorticotropa. ARP: Actividad renina plasmática. HC: Historia clínica

4.2 Procedimiento

Tras la selección de los pacientes que cumplían criterios de inclusión se recogió la información demográfica (edad y sexo) y hábitos tóxicos.

La clasificación de los pacientes reclutados en el estudio en función del hábito tabáquico se realizó siguiendo las normas de catalogación promovidas por la Organización Mundial de la salud, considerándose:

-Fumadores: a aquellas personas que en el momento de la inclusión fumaban, bien sea de forma diaria u ocasional.

-No fumadores: a aquellas personas que no habían fumado nunca, o que no llegaron a fumar diariamente durante 6 meses o más en el pasado.

-Ex fumadores: a las personas que no fumaban pero que lo hicieron durante 6 meses o más en el pasado.

El control de la tensión arterial se realizó en cada visita. La medición de la presión arterial y frecuencia cardíaca se realizaron utilizando el esfigmomanómetro digital Omron. Se realizaron 2 mediciones consecutivas separadas por 3 minutos de intervalo en el brazo izquierdo con el paciente sentado. En caso de que existieran diferencias de más de 5 mmHg entre las tomas, se realizó una tercera determinación pasados unos minutos. Como valor de presión arterial se tomó el promedio entre las tomas. El sujeto no había fumado, tomado café ni realizado ejercicio brusco en los 30 minutos previos a la realización de la exploración.

Para la determinación de las medidas antropométricas, se recogió la talla y el peso (descalzos y en ropa interior), con báscula digital y tallímetro convencional. Como criterio de clasificación de la obesidad se usó como criterio el Índice de Masa Corporal (IMC = $\text{Peso en Kilogramos} / \text{Altura en metros al cuadrado}$), según la primera

Conferencia Internacional sobre el control del peso (1985). Clasificándose, por consiguiente, como:

- Delgados: si su IMC era inferior a 20.
- Con normopeso: las que su IMC sea mayor o igual que 20, pero menor de 25.
- Con sobrepeso: aquellas cuyo IMC se halle comprendido entre 25 y 30.
- Obesos: Cuando el IMC sea igual o superior a 30.

En el momento de inclusión, se realizó una determinación de la función renal mediante el aclaramiento endógeno de creatinina; La concentración de creatinina en suero (mg/dl) se determinó mediante una prueba cinética colorimétrica (método Jaffé, Autanalizador Olympus, AU5400). Los coeficientes de variación interserial del método son de 2,5% (0,85 mg/dl) y de 2.3% (5,9mg/dl). Aclaramiento de creatinina. ($V_{\text{orina}} \cdot [\text{Creatinina}]_{\text{orina}} / [\text{creatinina}]_{\text{plasma}} \cdot 1440$)(ml/min).

La determinación de albúmina en orina (mg/L) (microalbuminuria) se realiza mediante técnica de inmunturbidimetría (autoanalizador Olympus, AU5400).

La determinación de colesterol total en suero (mg/dl) se realizó mediante un método enzimático con detección en el rango del visible (método CHOD-PAP) (autoanalizador Olympus, AU5400), con coeficientes de variación interserial de 2,1% (126mg/dl) y 2,3% (270 mg/dl). La cHDL en suero (mg/dl) se determinó mediante un método enzimático que utiliza anticuerpos antilipoproteína B humana, con detección en el rango del visible (método de inmunoinhibición) (autoanalizador Olympus, AU5400) y coeficiente de variación interserial de 2,3% (60mg/dl). La concentración de triglicéridos en suero se determinó mediante un método colorimétrico enzimático (autoanalizador Olympus, AU5400) con coeficientes de variación interserial de 1,7% (85 mg/dl) y de 2,3% (218 mg/dl). La cLDL se calcula mediante la fórmula de Friedewald ($cLDL = CT - cHDL_{\text{homogéneo}} - TG/5$) para muestras normotrigliceridémicas

([TG] \leq 300 mg/dl) considerándose la $cVLDL = TG/5$ o, en el caso de muestras hipertriglicéridémicas ([TG] > 300 mg/dl) se sustituye a la fórmula de Friedewald el término que equivale a la $cVLDL$ para determinarlo mediante el método recomendado que combina ultracentrifugación y precipitación.

La concentración de glucosa (mg/dl) en suero se determinó mediante una prueba cinética con detección en el rango UV (método hexoquinasa) (Autoanalizador Olympus, AU5400), con un coeficiente de variación interserial de 1.9%. La definición de diabetes mellitus se basó en los criterios de la reunión de consenso de la Asociación Americana de Diabetes, realizada en 1997. Así, un individuo tiene diabetes mellitus si presenta una glucemia en ayunas igual o superior a 126 mg/dL, al menos en dos ocasiones diferentes y el diagnóstico es indiscutible cuando una sola prueba indica cifras de glucosa iguales o superiores a 200 mg/dL en cualquier momento del día y en presencia de síntomas definidos de hiperglucemia, tales como poliuria, polidipsia y polifagia.

Estas determinaciones se repitieron durante el seguimiento de forma anual (12-17 meses). Así mismo se practicó fondo de ojo y un ecocardiograma que se repitieron de forma bianual.

Se utilizó las tablas de Framingham para clasificar los enfermos en función de los factores clásicos de riesgo vascular.

Los valores de referencia para las moléculas endoteliales se tomaron de una muestra de 60 individuos sanos de edad y sexo comparables.

4.3 Marcadores endoteliales

Las muestras de sangre se tomaron en tubos VACUTAINER® de la vena cefálica. Para la determinación de lípidos se extrajo la sangre en tubos de cristal sin aditivos tras 12h de ayuno. Para la determinación de hemostasia y fibrinólisis se utilizó una aguja de 19g sin torniquete en tubos de silicona de 10ml con 0,3ml de citrato sódico al 3,8%. Las muestras se transportaron en hielo y se centrifugaron inmediatamente a 1000 x g durante 45 minutos a 4 °C. Las alícuotas de plasma pobre en plaquetas obtenido se almacenaba a -80°C hasta su procesamiento

La medida de lesión endotelial se realizó a través de la determinación de ICAM-1, y trombomodulina (TM) que se realizaron a través de una técnica de ELISA (Asserachrom Diagnostica Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) con un coeficiente de variación de 9,5, 11,5 y 7,5 respectivamente.

La medida de la respuesta celular endotelial in vivo se realizó a través de la determinación del antígeno (Ag) inhibidor del activador de plasminógeno tipo 1 (PAI-1), del Ag del activador tisular del plasminógeno tipo 1 (TPA- 1) y de los complejos TPA/PAI, por lo que se realizó técnicas de ELISA para la determinación de PAI y TPA (Asserachrom Diagnostica Boehringer Mannheim, Mannrmheim, Germany) con un coeficiente de variación de 5,2 y 8,2 respectivamente.

Para la valoración de la formación de fibrina in vivo se utilizó la determinación de fibrinopéptido A (FPA) por técnica de ELISA (Boehringer Mannheim GMBH; Diagnostica Otago) y de complejos trombina –antitrombina (TAT) por ELISA (Asserachrom Diagnostica Boehringer Mannheim, Mannheim, Germany) con coeficientes de variación de 6,5 y 9,5 respectivamente.

Con la determinación del D-Dímero se valoró la degradación de fibrina plasmina dependiente.

4.4 Definiciones

Se define microalbuminuria la excreción urinaria de albúmina > 30 e < 300 miligramos en tres controles consecutivos, en muestras de 24h.

Se define insuficiencia renal si presenta un aclaramiento endógeno de creatinina inferior a $60\text{ml}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$.

La presencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI) se define por el IMVI en el ecocardiograma, siendo para los hombres $>130\text{g}/\text{m}^2$ y en las mujeres $>110\text{ g}/\text{m}^2$.

4.5 Definición de resultados.

Se consideró evento cardiovascular (mortal o no mortal) cuando la causa era debida a: 1) cardiopatía isquémica cuando se produzca: infarto agudo de miocardio (IAM), angor con cambios electrocardiográficos típicos, gamagrafía de esfuerzo positiva o eco de estrés positivo 2) enfermedad cerebrovascular: accidente vascular cerebral (AVC), accidente isquémico transitorio (AIT), Eco-Doppler de carótidas compatible 3) enfermedad vascular periférica: Oscilometría de extremidades inferiores y claudicación intermitente y 4) alteraciones del ritmo cardiaco específicamente documentadas.

La muerte de causa no cardiovascular fue definida por aquella que fue debida a: 1) neoplasia, 2) infección, 3) complicación metabólica aguda, 4) otras causas clasificables y sin relación a la enfermedad ateromatosa y 5) causa desconocida.

4.6 Análisis estadístico

La descripción inicial se realizó con una n de 351 pacientes. Durante el estudio hubo una pérdida de 20 enfermos por diferentes causas (cambio de domicilio, baja voluntaria del estudio, desconocida...) por lo que los modelos univariados y multivariados se realizaron sobre una n de 331 pacientes.

Las variables con distribución normal se dieron la media más/menos desviación estándar (SD). Las variables de distribución no normal se dieron la mediana y los percentiles 25 y 75. En la comparación entre grupos para variables numéricas se realizó la T-student para datos independientes. Para la comparación de proporciones se utilizó el test χ^2 con corrección de Yates para muestras de tamaño reducido ($n < 5$).

Se utilizó el test de correlación de Pearson para variables cuantitativas. La tasa de morbilidad fue expresada en forma de complicaciones/1000pac/año. El análisis de mortalidad univariado se realizó con curvas de Kaplan-Meier, con log-rank test para comparar curvas de supervivencia de forma individual.

Con todas las variables en las que se apreció una asociación significativa con la morbilidad cardiovascular (CV) en el análisis univariado se ideó un modelo multivariado utilizando la regresión de COX con un método de introducción manual de variables.

Se consideró la $p < 0,05$ estadísticamente significativa.

Los cálculos se han realizado con el paquete estadístico para Windows SPSS y EPI-info.

5. - RESULTADOS

5.1 Estudio basal.

5.1.1 Descripción de variables

En la tabla 2 se resumen las características clínico-demográficas basales de los pacientes. La media de edad de los pacientes incluidos (n = 351) fue de 58,3 con un rango entre 23-83 años. Existe un predominio de varones con una tasa de fumadores del 23,9%

N	351
Edad	58 (23-83)
Sexo	196 H 155 M
IMC	27 (23,2-30,8)
TAS	170 (166-173) dt 25
TAD	100 (97-103) dt 19
Fumadores	89 (23,9%)

Tabla 2. Características iniciales de los pacientes incluidos. IMC: índice de masa corporal; TAS: tensión arterial sistólica; TAD: tensión arterial diastólica

La gravedad de la HTA se clasificó según los criterios de JNC-VII. El 51,4% presentaban un estadio I, el 36,8% un estadio 2 y un 11,8% un estadio 3. (Fig. 4)

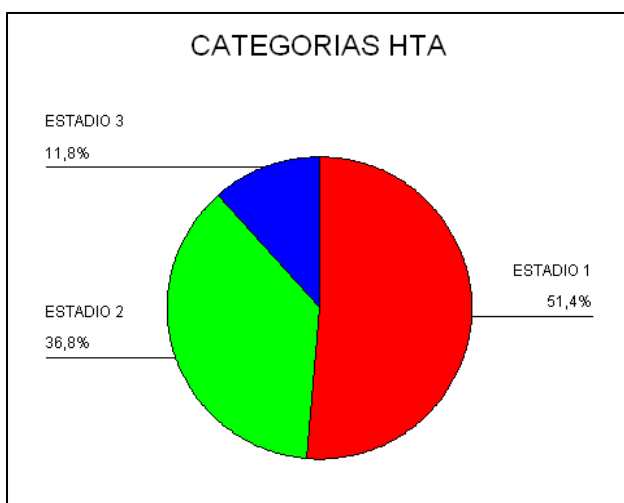


Fig. 4. Clasificación de los pacientes en función grado HTA según la JNC-VII

En la tabla 3 están resumidas las características bioquímicas al inicio del estudio. La media de colesterol fue de 206mg/dl. La distribución de los valores de filtrado glomerular (FG) se resume en la Fig. 5. El 93% de los pacientes mantenían un FG > 60ml/min (tabla 3).

COLESTEROL	206 (36.8)
CREATININA	1.08 (0.14)
ACL CREATININA	85 (18.6)
MICROALBUMINURIA	6 (0 – 276)
GLUCEMIA	89 (13.76)

Tabla 3. Características bioquímicas al inicio estudio

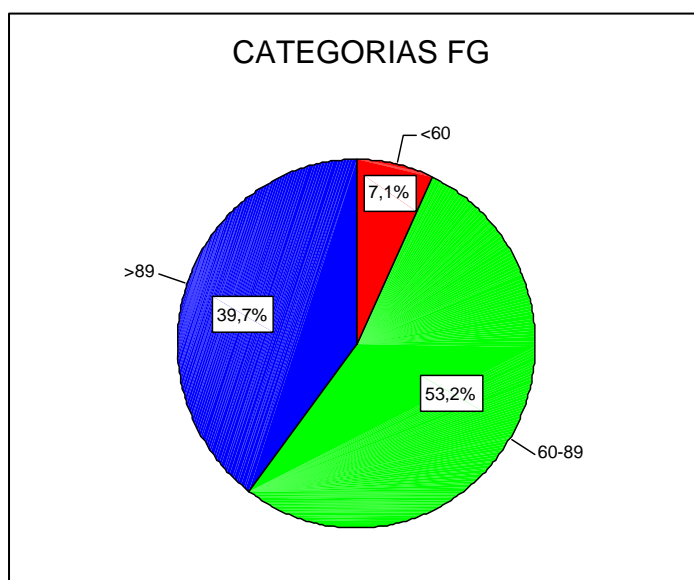


Fig. 5. Distribución de FG (filtrado glomerular)

En la tabla 4 se resume la distribución de la microalbuminuria por cuartiles debido a que su distribución no es normal.

n=351	media	mediana	q-1	q-2	q-3	q-4
microalbuminuria	16,9	6	<3,12	3,12-6,25	6,25-14,5	>14,5

Tabla 4. Distribución de los niveles basales de microalbuminuria.

En la tabla 5 se muestra la distribución de los valores para las moléculas de endotelio. Los coeficientes de variación interindividuales de los pacientes a lo largo del estudio calculados para las siguientes moléculas fueron:

ICAM – 1: 14,4%

TM: 12,28%

TAT: 26,4%

FPA: 28,95%

PAI – 1: 31,1%

TPA/PAI – 1: 34,9%

n=351	Media	Mediana	q-1	q-2	q-3	q-4
TM	56,9	42	<14	14-33	33-60,5	>60,5
PAI-1	10,6	12,6	<6,5	6,5-12,6	12,6-33,1	>33,1
TPA	8,57	8	<5,5	5,5-8	8-10,5	>10,5
D-dimero	363	335	<45	45-335	335-611	>611
FPA	47,6	45	<23	23-45	45-58	>58
ICAM-1	462,3	326,45	<183	183-326,2	326,2-478	>478
TPA/PAI-1	3,12	2,5	<1,85	1,85-2,5	2,5-3,25	>3,25
TAT	12,17	12	<3	3-12	12-14,5	>14,5

Tabla 5. Distribución de los niveles basales de marcadores endoteliales. TM: trombomodulina; PAI-1: inhibidor del activador de plasminógeno; TPA: activador tisular de plasminógeno; FPA: fibrinopéptido A; TAT: complejo trombina-antitrombina. ICAM-1: molécula de adhesión intercelular

En la tabla 6 se resume la matriz de correlación de Pearson entre las moléculas de endotelio, parámetros de hemostasia y microalbuminuria. Se observa una alta correlación entre los niveles de ICAM-1, PAI-1 y TM, que sugieren que están midiendo un mismo proceso. Dado que ICAM-1 y TM presentan un coeficiente de variación interindividual menor, fueron los parámetros escogidos para la realización del modelo predictivo.

Por otra parte la correlación positiva que presentan ICAM-1, TM y PAI-1 con parámetros del sistema de coagulación como los complejos TAT y FPA sugiere que en pacientes con marcadores de endotelio elevados presentan cierto estado protrombótico

Parámetros	Edad	IMC	Microal	PAI-1	ICAM-1	FPA	TAT	D-dimero	TPA/PAI
IMC	0,114 ^a								
Microal	0,238 ^b	0,087							
PAI-1	0,107 ^a	0,399	0,408						
ICAM-1	0,106 ^a	0,137 ^a	0,567 ^b	0,792 ^b					
FPA	0,296 ^b	0,207 ^b	0,596 ^b	0,538 ^b	0,719 ^b				
TAT	0,107 ^a	-0,02	0,189 ^b	0,517 ^b	0,565	0,415 ^b			
D-dimero	0,110 ^a	0,041	0,110 ^a	0,241 ^b	0,232 ^b	-0,37	0,488 ^b		
TPA/PAI1	0,061	-0,07	0,330 ^b	0,767	0,690	0,426 ^b	0,440 ^b	0,140 ^a	
TM	0,105 ^a	-0,21	0,467 ^b	0,635 ^b	0,721 ^b	0,655 ^b	0,241 ^b	0,254	0,699 ^b

a: p < 0,05
b: p < 0,01

Tabla 6. Matriz de correlación de Pearson entre moléculas de endotelio, parámetros de hemostasia, edad, IMC y microalbuminuria. IMC: índice de masa corporal; microal. Microalbuminuria; PAI-1: inhibidor de activador de plasminógeno; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular; FPA: fibrinopéptido A; TAT: complejo trombina-antitrombina.

	Controles	Enfermos	P
ICAM – 1	326 (150-461)	350 (176-518)	NS
TM	35 (15-45)	42 (15-215)	NS
PAI – 1	9,5 (1- 21,2)	12,66 (5,3-110)	NS
FPA	35 (15-110)	45 (8-400)	NS
TAT	10 (1-12)	12 (0-16)	NS
D-dímero	291 (12-358)	335 (165-606)	NS

Tabla 7. Niveles de marcadores endoteliales en enfermos con HTA esencial vs controles. TM: trombomodulina; PAI-1: inhibidor de la activación del plasminógeno; FPA: fibrinopéptido A; TAT: complejos trombina-antitrombina. ICAM-1: Molécula de adhesión intercelular.

Con respecto a los niveles de marcadores endoteliales, como observamos en la tabla 7, no existen diferencias significativas entre los controles y los enfermos con HTA esencial. Las medianas son iguales pero tienen una distribución diferente con desviación a la derecha en el grupo de enfermos.

5.1.2 Prevalencia de complicaciones.

En la tabla 8 se muestra la prevalencia inicial de complicaciones. La prevalencia de HVI es del 35%, la de microalbuminuria del 10% y el de retinopatía hipertensiva del 14,9%.

	N	%(IC 95%)
Microalbuminuria	35	10 (6.87 – 13.3)
HVI	122	35 (30.9 – 41)
Retinopatía	52	14.9 (11.3 – 18.6)

Tabla 8. Prevalencia de complicaciones. HVI: hipertrofia ventricular izquierda

5.1.3 Factores asociados a microalbuminuria

La microalbuminuria presentó únicamente una asociación estadísticamente significativa con la edad ($p < 0,001$) y la función renal ($p < 0,03$) (tabla 9)

VARIABLE	P
EDAD	0.001
ACL CREATININA	0.03
TAS	NS
TAD	NS
VI	NS
RETINOPATIA	NS

Tabla 9. Variables asociadas a microalbuminuria. ACL: aclaramiento; TAS: tensión arterial sistólica; TAD tensión arterial diastólica; HVI: hipertrofia ventricular izquierda

	Microalbuminuria	No microalbuminuria	P
FPA	49 (38-385)	45 (20-400)	NS
PAI-1	13,2 (5,3-110)	12,5 (11,1-95)	NS
ICAM-1	395 (180-518)	312 (176-360)	NS
TM	41 (15-216)	38 (12-125)	NS

Tabla 10. Relación entre microalbuminuria y marcadores endoteliales. FPA: fibrinopéptido A; PAI-1: inhibidor de la activación del plasminógeno; ICAM-1: molécula de adhesión intercelular tipo 1; TM: trombomodulina.

No se observa ninguna asociación significativa al comparar las medianas de los marcadores endoteliales entre los grupos con microalbuminuria y sin microalbuminuria. Sí se observa que la distribución no es normal, y está desviada hacia la derecha en los enfermos que presentan microalbuminuria. (Tabla 10)

5.2 Seguimiento

5.2.1 Evolución micro/macroalbuminuria

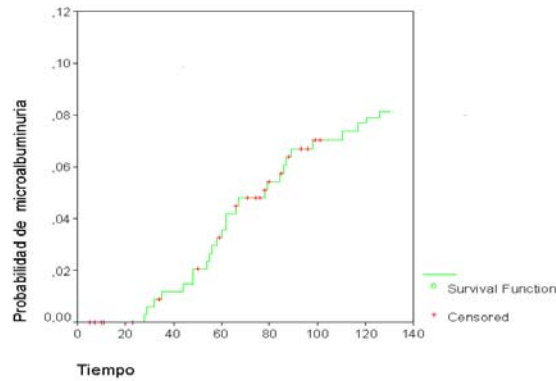


Fig. 6. Incidencia de novo de microalbuminuria.

Durante el seguimiento se apreció una tasa de incidencia de 8.1 casos/1000pac/año de microalbuminuria de novo (fig. 6). De los predictores independientes destaca el presentar los marcadores de endotelio en el cuartil alto. Otras variables relacionadas fueron la edad, el grado de IMC y a la tensión sistólica media (Tabla 11).

	RR	IC 95%	
Edad	1,03	1,06	1,65
Q4 end	1,21	1,13	6,4
IMC	1,29	1,07	2,49
TAS media	1,36	1,08	3,11

Tabla 11. Edad: por cada 5 años. Microalbuminuria: presencia vs. ausencia. IMC: por cada unidad de aumento. TAS: Tensión arterial sistólica.

Durante el seguimiento, 7 pacientes presentaron proteinuria mayor de 1g/24h, 3 de estos pacientes no se había detectado microalbuminuria en los controles previos. A

criterio del médico habitual, se realizó biopsia en 4 de ellos siendo la anatomía patológica en todas ellas a un patrón de nefroangiosclerosis (Fig. 7).

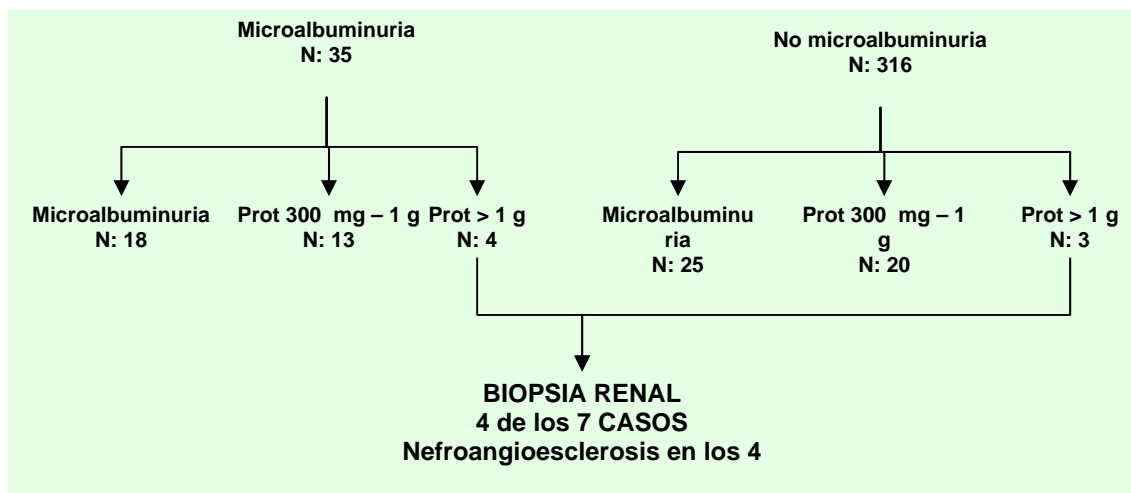


Fig. 7. Desarrollo de proteinuria

	RR	IC 95%	
Edad	1,18	1,02	14,6
Microalb	3,7	0,9	18,7
Q4 end	1,20	1,03	28
IMC	1,36	1,02	36
TAS media	1,51	1,18	22

Tabla 12. Edad: por cada 5 años. Microalbuminuria: presencia vs. ausencia. IMC: por cada unidad de aumento. Q4 cuartil alto glicoproteínas endoteliales TAS: por cada 5 mm Hg de aumento

Los predictores independientes de desarrollar algún grado de proteinuria durante el seguimiento fueron en primer lugar la presencia de microalbuminuria en el momento del inicio del estudio. Además fueron predictores independientes pertenecer al cuartil alto de endotelio, la edad el IMC y la tensión arterial media (tabla 12).

5.2.2 Evolución glicemia

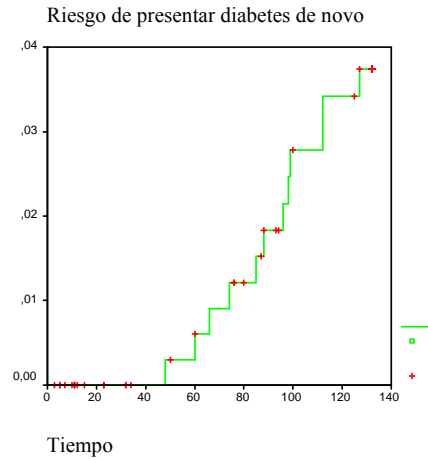


Fig. 8. Riesgo de diabetes de novo.

La tasa de incidencia de diabetes mellitus fue de 3.3 casos/1000pac/año, siguiendo los criterios de la ADA de 1997 (Fig. 5.). En cambio, si evaluamos la evolución de la glicemia (EVOLGLI) como el cambio entre la glicemia basal y final o la pendiente de glicemia (PENDGLI) como los cambios de glicemia por año de seguimiento (n=298), observamos un incremento significativo a lo largo de los 11 años. Si seleccionamos a los pacientes en función de la toma de diuréticos o no en los regímenes terapéuticos, encontramos tanto en la evolución de la glicemia como en su pendiente una diferencia significativa entre los 2 grupos, habiendo un empeoramiento de la glicemia en aquellos pacientes que tomaban en el tratamiento diuréticos respecto aquellos pacientes que no los tomaron (Tabla 13-15).

Statistics

		PENDGLUC	EVOLGLUC
N	Valid	298	298
Mean		,6463	7,1089
Median		,4545	5,0000
Std. Deviation		1,5929	17,5221
Minimum		-2,55	-14,00
Maximum		4,82	53,00

Tabla 13. Glicemia basal descriptiva

Group Statistics

TTO		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
EVOLGLUC	diuretico con o sin betabloquente	98	9,8933	18,8037	1,5353
	no diuretico ni betabloqueante	200	4,1847	14,4339	1,4580
PENDGLUC	diuretico con o sin betabloquente	98	,8994	1,7094	,1396
	no diuretico ni betabloqueante	200	,4259	1,3122	,1325

Tabla 14. Glicemia según tratamiento diurético

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
EVOLGLUC	Equal variances assumed	14,465	,000	3,152	246	,002	7,0464	2,2358	2,6426	11,4502
	Equal variances not assumed			3,328	239,597	,001	7,0464	2,1173	2,8754	11,2174
PENDGLUC	Equal variances assumed	14,465	,000	3,152	246	,002	,6406	,2033	,2402	1,0409
	Equal variances not assumed			3,328	239,597	,001	,6406	,1925	,2614	1,0198

Tabla 15. Comparación de medias de glicemia.

En el análisis multivariado para evaluar cuales eran las variables predictoras de empeoramiento de la glicemia por año de seguimiento, se observó que eran variables independientes de forma significativa la edad del paciente, el índice de masa corporal al inicio del estudio y el tratamiento hipotensor realizado (Tabla 16).

VARIABLE	BETA	SE	T	SIG
Edad	0,14	0.081	6,57	0,001
IMC basal	0,27	0,023	7,23	0,001
Tratamiento	0,56	0,001	9,31	0,000
Constante	10,16	2,18		

PENGLUC F: 24,61 $p < 0.001$ $R^2 = 0,345$

Tabla 16. Predictores independientes de la evolución de la glucemia basal Edad por cada 5 años. IMC: por cada unidad de aumento Tratamiento: diurético con o sin beta-bloqueante vs no diurético

5.2.3 Tipo de tratamiento hipotensor y grado de control obtenido.

El 29% de los pacientes recibieron un fármaco. El 55% de los pacientes recibieron 2 fármacos. El 11,7% recibieron tratamiento con 3 fármacos. El 3,32% recibieron tratamiento con 4 fármacos.

En las tablas 17, 18, 19 y 20 se resumen las principales asociaciones de fármacos.

MONOTERAPIA	N : 96	29 %
IECAS	30	31,2
ARAII	26	27
AG CALCIO	18	18,7
BETA-BLOQUEANTES	12	12,5
DIURETICOS	10	10,4

Tabla 17. Fármacos en monoterapia

2 FARMACOS	N :185	% : 55,8
IECA O ARA II + DIURETICO	120	64,8%
IECA O ARA II + ANTAG CALCIO	33	15,3
BETA-BLOQUEANTE + DIURETICO	18	9,72
IECA O ARA II + BETA-BLOQUEANTE	10	5,4
ANTAG CALCIO + DIURETICO	4	2,1

Tabla 18. Asociación de 2 fármacos.

3 FARMACOS	N :39	% : 11,7
IECA O ARA II + DIURETICO+ AG CALCIO	27	69,2
IECA O ARA II + DIURETICO + BETA-BLOQUEANTE	6	15,3
IECA O ARA II + BETA-BLOQU + AG CALCIO	4	10,2
BETA-BLOQUEANTE + DIURETICO + AG CALCIO	2	5,1

Tabla 19. Asociación de 3 fármacos.

4 FARMACOS	N :11	% : 3,32
IECA O ARA II + DIURETICO+ AG CALCIO + BETA-BLOQUEANTE	9	81,8
IECA O ARA II + DIURETICO + BETA-BLOQUEANTE + ALFA BLOQUEANTE	2	18,1

Tabla 20. Asociación de 4 fármacos.

Con relación al tratamiento a lo largo del seguimiento se consigue un grado de control de la HTA con cifras inferiores a 140/90 del 75,5% y por debajo de cifras de tensión arterial de 130/80 de un 57,7% de enfermos (tabla 21).

TA	N	%
< 140/90	250	75.5
< 130/80	191	57,7

Tabla 21. Control Tensión Arterial (TA).

5.2.4 Mortalidad

La mortalidad global observada a lo largo del estudio fue del 9,3% que corresponde a una tasa de incidencia de 8,53 fallecimientos/1000pac/año, siendo la causa cardiovascular la responsable de casi la mitad de la misma (4,5%), con una tasa de incidencia de 4,13 fallecimientos/1000pac/año (Tabla 22). Las figuras 9 y 10 corresponden a las curvas de supervivencia.

RESULTADO	N	INCIDENCIA (1000 PAC/AÑO)
MORTAL TOTAL	31	8.53
MORT CV	15	4.13
EVENTOS CV TOTAL	55	15.1
C.ISQUEMICA	20	5.50
AVC ISQUEM	15	4.13
EV PERIFER	10	2.75
INSUF CARDIACA	10	2.75
AC XFA	6	1.65
IRC ESTADIOS IV - V	5	1.37
DIABETES	12	3.30

Tabla 22. Incidencia de mortalidad y morbilidad cardiovascular. AVC: Accidente vascular cerebral; EV: enfermedad vascular; AC x FA: arritmia cardíaca por fibrilación auricular; CV: cardiovascular

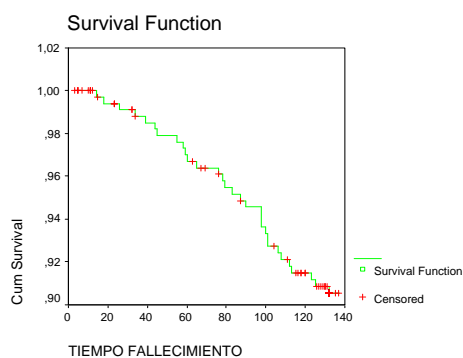


Fig. 9. Supervivencia global

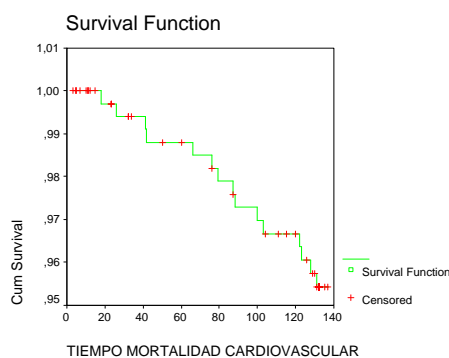


Fig. 10. Supervivencia cardiovascular

5.2.6 Morbilidad

Durante el periodo de seguimiento, el 16,6% de los pacientes estudiados presentan eventos cardiovasculares, con una tasa de incidencia de 15,1 casos/1000pac/año, siendo la cardiopatía isquémica la causa más frecuente (6%) con una tasa de incidencia de 5,5 casos/1000pac/año.

Variable	RR	IC95%	P
Mal control TA	1,62	1,07 - 2,45	0,044
HVI	1,58	1,17 - 2,14	0,010
FUMADOR	2,51	1,24 - 5,06	0,017
SEXO(v)	1,93	1,12 - 3,32	0,021
Q4 ENDOTEL	1,84	1,24 - 2,73	0,007
MICRO	1,6	1,05 - 2,44	0,042
HDLC < 40	1,64	1,05 - 2,56	0,033

Tabla 23. Variables asociadas a morbilidad cardiovascular. Análisis univariado. TA: tensión arterial; HVI: hipertrofia ventricular izquierda; v: varón; Q4: cuartil 4; HDCL colesterol HDL; micro: microalbuminuria presente

La tasa de incidencia de diabetes mellitus fue de 3,3 casos/1000pac/año. Y una tasa de incidencia del 1,37 casos/1000pac/año para insuficiencia renal crónica en estadio IV-V.

En el análisis univariado las variables asociadas a morbilidad cardiovascular fueron: mal control de la tensión arterial, edad, sexo (ser varón), ser fumador activo, microalbuminuria, cuartil 4 de ICAM-1, HVI y colesterol HDL inferior a 40 (Tabla 23)

El análisis de la influencia de la microalbuminuria y de ICAM-1 se hizo considerando ambas variables de forma continua y una vez clasificadas en cuartiles. Tras demostrar la ausencia de asociación entre riesgo vascular y microalbuminuria-ICAM-1 de forma continua, se apreció que sí existía mayor riesgo cardiovascular en el cuartil alto de microalbuminuria y ICAM-1

Grupo	N	MORTALIDAD TOTAL		MORTALIDAD CARDIOVASC		MORBILIDAD CARDIOVASC	
		N(%)	X1000 pac/año	N(%)	X1000 pac/año	N(%)	X1000 pac/año
1	247	19(7,7)	6,99	10(4,04)	3,68	36(14,5)	13,2
2	42	6(14,2)	12,9	3(7,14)	6,49	7(16,6)	15,5
3	28	3(10,7)	9,74	1(3,57)	3,24	5(17,8)	16,2
4	14	3(21,4)+	19,4+	1(7,14)*	6,49*	7(50)[]	45,2[]
TOTAL	331	31(9,36)	8,51	15	4,11	55	15,1

Tabla 24. Mortalidad total y morbilidad cardiovascular según niveles de marcadores endoteliales y microalbuminuria. Grupo 1: no microalbuminuria, q1-3 moléculas endoteliales. Grupo 2: No microalbuminuria, q4 moléculas endoteliales Grupo3: microalbuminuria q1-3 moléculas endoteliales. Grupo 4: microalbuminuria, q4 moléculas esndoteliales. + p: 0.95, * p: 0.78, [] p: 0.0025.

Si clasificamos la muestra en función de la presencia o no de microalbuminuria y los niveles de marcadores de endotelio (cuartiles), vemos que existe un aumento significativo ($p < 0,0025$) de la incidencia de morbilidad cardiovascular de 45 episodios/1000pac/año en el grupo 4 (microalbuminuria y elevación de marcadores endoteliales (cuartil 4)) respecto al grupo de menor riesgo (grupo 1: no microalbuminuria y marcadores endoteliales en cuartil 1-3). El RR no ajustado del grupo 4 es de 3,43 (1,87-6,18) con una $p < 0,0018$ (tablas 24 y 25)

		MORBILIDAD CARDIOVASC			
Grupo	N	N	X1000 pac/año	RR	P
1	247	36	13,2	1	
2	42	7	15,5	1,17 (0,44 – 3,03)	0,9
3	28	5	16,2	1,23 (0,50 – 2,8)	0,85
4	14	7	45,2	3,43 (1,87 -6,28)	0,021
TOTAL	331	55	15,1		

Tabla 25. Riesgo relativo según grupo (no ajustado) Grupo 1: no microalbuminuria, q1-3 moléculas endoteliales. Grupo 2: No microalbuminuria, q4 moléculas endoteliales Grupo 3: microalbuminuria q1-3 moléculas endoteliales. Endoteliales. Grupo 4: microalbuminuria q4 moléculas endoteliales.

Si este mismo grupo de pacientes se clasifica el riesgo cardiovascular según los factores de riesgo de Framingham, observamos de igual manera que es el grupo de alto riesgo el que tiene una tasa de complicaciones cardiovasculares más elevadas que el resto de grupos (tasa de incidencia 31,8/1000pac/año $p < 0,036$) y un RR no ajustado de 3,47 con una p de 0,017 (tablas 26 y 27).

		MORTALIDAD TOTAL		MORTALIDAD CARDIOVASC		MORBILIDAD CARDIOVASC	
Grupo	N	N (%)	X1000 pac/año	N (%)	X1000 pac/año	N (%)	X1000 pac/año
BAJO	99	7(7,07)	6,49	3(3,03)	2,75	10(10,1)	9,18
MODERADO	163	14(8,58)	7,80	6(3,68)	3,34	27(16,5)	15,0
ALTO	49	6(12,2)	11,1	4(8,16)	7,42	11(22,4)	20,4
MUY ALTO	20	4(20) +	18,1	2(10) *	9,09	7(35) []	31,8
TOTAL	331	31(8,83)	8,51	15(4,3)	4,11	55(15,6)	15,1

Tabla 26 Mortalidad total y morbimortalidad cardiovascular según categoría de riesgo inicial

		MORBILIDAD CARDIOVASC			
Riesgo	N	N	X1000 pac/año	RR	P
BAJO	99	10	9,18	1	
MODERADO	163	27	15	1,64 (0,83 – 1,24)	0,5
ALTO	49	11	20,4	2,22 (0,94 – 4,87)	0,07
MUY ALTO	20	7	31,8	3,47 (1,5 - 8,01)	0,017
TOTAL	331	55	15,1		

Tabla 27 Riesgo relativo según categoría de riesgo (no ajustado)

La tabla 28 muestra las medianas de ICAM-1, TM y microalbuminuria en los diferentes grupos clasificados en función de los parámetros clásicos de riesgo. Las diferencias no son significativas pues carece de poder estadístico suficiente ya que la variabilidad dentro de cada grupo es muy grande. El porcentaje de enfermos con valores de ICAM-1 y/o TM superiores al valor que define el cuartil alto no aumenta significativamente en enfermos considerados de riesgo alto o muy alto.

		ICAM-1		TM		MICROALB		Q4 ICAM-1 Y/O TM	
Grupo	N	mediana	min-max	mediana	min-max	mediana	min-max	%	IC 95%
BAJO	99	301	182-490	9,02	1,5-28	3,25	0-36,2	22,2	14,1 – 30,3
MODERADO	163	475	213-500	47	6,5-94	6,97	0-158	22,6	12,2 - 33
ALTO/ MUY ALTO	69	501	176-518	86,4	2,5-216	22,4	3,2-50	33,3	25,3 – 41
TOTAL	331	326,4	176-518	42	1,5-216	6	0-276		

Tabla 28. Niveles de ICAM-1 TM y microalbuminuria y % de enfermos > Q4 de ICAM-1 y/o TM en función de categoría de riesgo.

El riesgo de padecer un evento cardiovascular es del 15% a los 10 años de seguimiento, siendo un riesgo progresivo a lo largo del tiempo (Fig. 11).

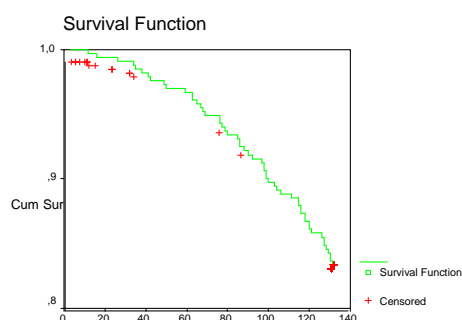


Fig. 11. Supervivencia de enfermedad cardiovascular

La supervivencia libre de cardiopatía isquémica no difiere demasiado a la de mortalidad de causa cardiovascular (alrededor de 94%) y su evolución en el tiempo es progresiva. El riesgo de padecer enfermedad cerebrovascular también es muy similar, cerca del 5% (o lo que es lo mismo una supervivencia libre de enfermedad del 95%). La curva representada es muy similar. (Fig. 12, Fig. 13)

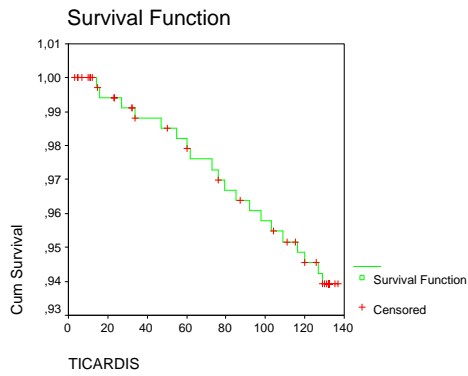


Fig12. Supervivencia de cardiopatía isquémica

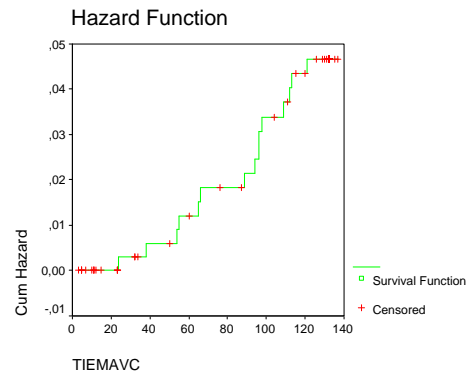


Fig13. Tiempo libre de enfermedad cerebrovascular

A pesar de que la incidencia de alteraciones en el ritmo cardíaco (fibrilación auricular), es más baja, su comportamiento también es diferente. Al inicio del seguimiento su incidencia es estable para aumentar en los últimos meses de seguimiento. De una forma más acusada ocurre lo mismo en la incidencia de la enfermedad vascular periférica que se mantiene estable hasta el 78 mes de seguimiento a partir del cual su aparición es rápidamente progresiva (Fig. 14, Fig. 15).

El riesgo de padecer el primer episodio de insuficiencia cardíaca también se mantiene estable hasta el mes 50 de seguimiento para aumentar progresivamente de forma importante hasta un riesgo de 3,5% aproximadamente (Fig. 16).

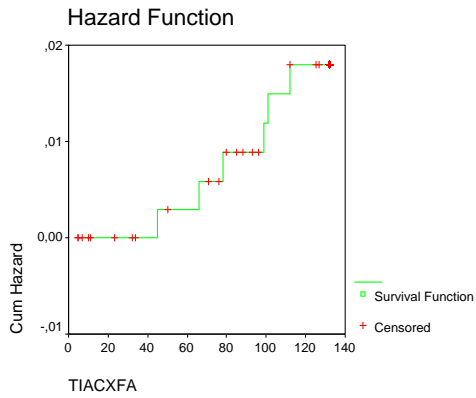


Fig. 14. Tiempo libre de fibrilación auricular

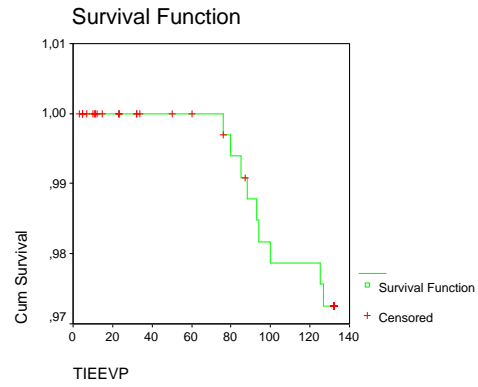


Fig.15 Supervivencia de enf vascular periférica

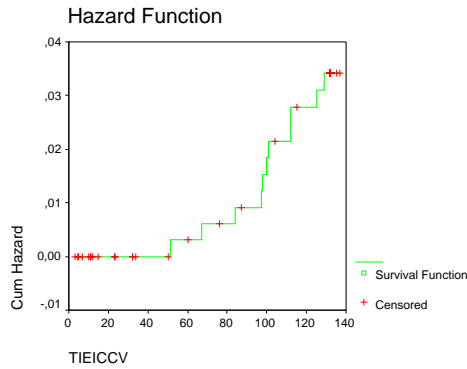


Fig. 16. Tiempo libre de insuficiencia cardíaca.

Si hacemos referencia a la aparición de insuficiencia renal crónica, a lo largo de los 11 años de evolución, ocurre de la misma forma que en las curvas anteriores, mantiene una incidencia estable durante los primeros 43 meses de seguimiento para aumentar de forma progresiva en los últimos años de seguimiento. Sólo presentan progresión los enfermos que al inicio del estudio presentaban un $FG \leq 60$ ml/min (Fig. 17).

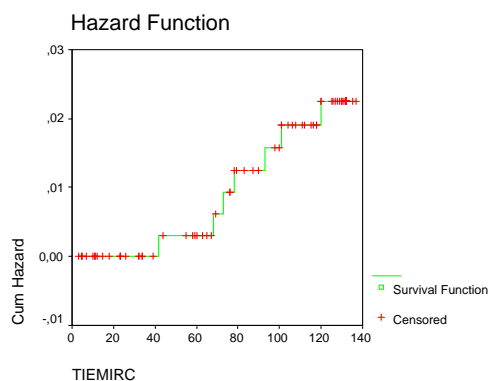


Fig. 17. Tiempo libre de insuficiencia renal crónica.

La tabla 29 resume el modelo multivariado de complicaciones cardiovasculares global, construido con las variables al inicio del estudio. El riesgo aumenta de forma independiente con la edad (1,08 cada 10 años), el déficit de control de la TA, la persistencia de HVI, el hecho de ser hombre (vs. ser mujer), continuar fumando y la coincidencia de pertenecer al cuartil alto de marcadores endoteliales y la presencia de microalbuminuria, pero no el tener microalbuminuria o marcadores endoteliales de forma aislada.

Este modelo clasifica correctamente al 88,9 % de los pacientes.

Al añadir en las variables predictoras la incidencia de micro/macroproteinuria los RR varían significativamente, la presencia de micro/macroproteinuria al inicio o durante el seguimiento o pertenecer al cuartil alto del endotelio, aumenta el riesgo de padecer un evento cardiovascular de forma significativa (RR 1.17, $p=0.0280$; RR 1.31, $p=0.0361$ respectivamente). En el caso de presentar las 2 variables el riesgo se incrementa substancialmente (RR 3.08, $p=0.017$). El resto de variables persisten en el modelo. Tras la modificación de la variable proteinuria el modelo Este modelo clasifica correctamente al 91,2 % de los pacientes (tabla 30).

MODELO PREDICTIVO CI n: 331

Variable	B	S.E.	Sig	RR
EDAD	,0796	,0325	,0142	1,08
HTA(1)	,0545	,0279	,0185	1,23
HVI	,9186	,5785	,0123	1,50
MIC	,0080	,0416	,4726	1,03
ENDO(Q4)	,0724	,4774	,3168	1,01
MIC*ENDO(q4)	,6982	,0397	,0145	2,36
SEXO(H)	,5259	,0810	,0023	1,72
FUMADOR	,6934	,1973	,0189	1,14

CLASIFICACIÓN = 1- U / N1 * N2 = 0.889

Tabla 29. Modelo predictivo. Significado de las variables: Edad: riesgo por c/ 10 años de aumento. HTA no controlada revisada según criterios JNC VII. HVI: persistente durante el seguimiento. MIC: presencia (>30) y no presencia (<30). ENDO: cuartil alto de ICAM-1 o TM. MIC* ENDO: cuartil alto de ambos a la vez. Sexo: Hombres vs Mujeres. TFG inicial < 80 vs > 80.

MODELO PREDICTIVO CI n: 301

Variable	B	S.E.	Sig	RR	IC 95%
EDAD	,0844	,0242	,0223	1,14	(1,03 - 8,6)
HTA(1)	,0662	,0437	,0239	1,18	(1,04 - 9,4)
HVI	,8167	,3246	,0167	1,61	(1,16 - 21,2)
MICRO/PROT	,0160	,0378	,0280	1,17	(1,09 - 31,4)
ENDO(Q4)	,1822	,3934	,0361	1,31	(1,13 - 22,5)
MIC + ENDO(q4)	,7125	,0176	,0174	3,08	(1,88 - 19,5)
SEXO(H)	,5112	,0102	,0142	1,64	(1,10 - 2,43)
FUMADOR	,5833	,2142	,0271	1,13	(1,01 - 13,2)

CLASIFICACIÓN = 1- U / N1 * N2 = 0.912

Tabla 30 Modelo predictivo. Significado de las variables: Edad: riesgo por c/ 10 años de aumento. HTA (1) no controlada revisada según criterios JNC VII. HVI: persistente durante el seguimiento. MICRO/PROT: microalbuminuria o proteinuria durante seguimiento ENDO: cuartil alto de ICAM-1 MIC* ENDO: microalbuminuria y cuartil endotelio. Sexo: Hombres vs Mujeres.

6. - DISCUSIÓN

En el presente estudio se analiza la relación entre los niveles solubles de glicoproteínas de origen endotelial (GE), y biomarcadores relacionados con el balance entre activación de la coagulación/fibrinólisis in vivo con la aparición de complicaciones en órganos diana y la morbimortalidad a largo plazo en una cohorte de enfermos con hipertensión arterial esencial, reclutada en las consultas externas de nefrología, seguida desde el momento del diagnóstico y tratada con prescripción libre, no limitada por un protocolo pre-definido.

Aunque el análisis de la relación entre el nivel de control de la presión arterial y la aparición de complicaciones diana no fue un objetivo de estudio, nuestros datos confirman los previamente publicados en otros estudios e indican que las cifras de tensión tomadas de forma casual ambulatoria, no se correlacionan con la aparición de lesión de órgano diana. Las razones que explican este hecho, son las siguientes: Cuando se diseñó el estudio, todavía no se disponía de evidencia sólida acerca de las variables relacionadas con lesión de órganos diana. Datos posteriores, han destacado que la monitorización ambulatoria (MAPA) durante 24 h, y en especial durante el período nocturno es el único parámetro que se correlaciona estadísticamente con la aparición de complicaciones. La utilización del MAPA permite una mejor valoración de la carga de tensión arterial total y el patrón nocturno. La toma en la consulta depende de la técnica del observador, de la misma variabilidad de la tensión arterial y sobre todo por la HTA de bata blanca. Actualmente El MAPA sólo se utiliza para valorar la HTA de bata blanca. No obstante es la única manera de detectar si hay alteración del patrón nocturno, el cual está asociado a un aumento de la morbimortalidad cardiovascular[75-76]. Diferentes estudios han puesto de manifiesto que los patrones nocturnos risers demostrados por MAPA se asocian a mayor riesgo de presentar lesión en órganos diana

(hipertrofia ventricular izquierda, mayor excreción de albumina o mayor grosor de la íntima media) y por tanto son pacientes con mayor riesgo cardiovascular [77-78]. Existe entre un 8 y un 20% de los pacientes que a pesar de presentar cifras correctas de TA en la consulta, están mal controlados de forma ambulatoria. Esta HTA enmascarada sólo es detectada con el uso de MAPA. Estos pacientes presentan mayor riesgo de padecer un evento cardiovascular respecto a los pacientes normotensos (RR: 1.92 (1.51-2.44)[79-81].

Por otra parte, la reciente aparición del concepto de hipertensión arterial central, determinada mediante tonometría del pulso y de la velocidad de la onda del pulso como medida de la elasticidad vascular, han aportado nuevos datos que indican que es la presión central y no la periférica la que mejor se correlaciona tanto con complicación de órganos diana como con la incidencia de eventos cardiovasculares[82].

El grado de control de la presión arterial obtenido en nuestra cohorte de enfermos es muy superior al descrito en diferentes estudios realizados en ámbito de atención primaria, tanto en España como en los EEUU, donde el porcentaje de enfermos con control óptimo de la TA se encuentra alrededor del 30-40% [2, 83-84]. En estudios donde se evalúa el grado de control en pacientes con afectación de órgano diana, sea en forma de cardiopatía, afectación renal u otra manifestación, es claramente inferior (<20%) [5]. Esta diferencia se explica probablemente como consecuencia de tratarse de una cohorte de enfermos sujeta a controles y visitas médicas intensivas que pueden haber reforzado la adhesión al tratamiento y haber facilitado los ajustes necesarios para conseguir un control adecuado de las cifras tensionales.

En relación a las combinaciones de antihipertensivos prescritas, debe considerarse que diseño del estudio es muy anterior a la aparición de los resultados de los estudios LIFE, ASCOT y ACCOMPLISH , por ello, la prevalencia de asociaciones

farmacológicas que incluyen beta-bloqueante y diurético como parte del tratamiento es, probablemente, superior a la que sería prescrita siguiendo las guías actuales[85-88].

Dada la limitación del tamaño de la muestra, por razones de poder estadístico, no se planteó realizar un análisis de mortalidad y, como medida de morbilidad cardiovascular, se consideró como indicador global la incidencia de cualquier evento cardiovascular en lugar de analizar las tasas de incidencia de cada evento de forma individual.

En lo que se refiere a la relación con la lesión de órganos diana en el momento del diagnóstico, en nuestra muestra hallamos una prevalencia de microalbuminuria, HVI y retinopatía (10%, 35% y 14.9% respectivamente) que se sitúan en los límites bajos de prevalencia descritos en diferentes estudios[89]. Dado que en la aparición de complicaciones de órgano diana, los dos factores más importantes son la magnitud de la carga tensional y el tiempo de evolución de la HTA, la baja prevalencia de complicaciones hallada en nuestra cohorte puede explicarse por el hecho de tratarse de una cohorte de enfermos de reciente diagnóstico. Además de ésta, hay otras explicaciones posibles. En el caso de la microalbuminuria las diferencias podrían también explicarse por: criterio de selección utilizado ya que en la mayoría de estudios poblacionales se utiliza la determinación única de la tira reactiva, mientras que en nuestro estudio se requirieron de tres determinaciones en orina de 24h. Por otra parte, en nuestra cohorte se descartó la presencia de enfermedad vascular clínica previa.

La relación entre microalbuminuria y cifras de tensión arterial, es controvertida. Algunos autores, Henareh, Pontremoli entre otros, describen una clara relación entre el grado de control de la presión arterial, microalbuminuria e incidencia de eventos cardiovasculares, sin embargo, otros no la han podido corroborar. Las diferencias en el

sistema de medida del grado de control de la presión arterial (MAPA vs no MAPA) pueden explicar en gran parte la discordancia entre los datos publicados: En nuestro estudio, las únicas variables asociadas a microalbuminuria fueron la edad y la función renal. No apreciamos asociación significativa con la presencia de HVI ni el nivel de HTA. Estos datos, difieren con los encontrados en la literatura ya que la mayoría de los trabajos publicados muestran una fuerte asociación entre la hipertrofia ventricular izquierda y/o retinopatía con la presencia de microalbuminuria[74, 90-91] El motivo de no encontrar asociación entre la HVI y/o retinopatía con microalbuminuria, podría deberse que a diferencia de otros estudios, nuestra muestra la forman pacientes con HTA leve (51,4% tienen un grado I según JNC-VII), de reciente diagnóstico que presentan un prevalencia baja de lesión en órgano diana[92-94].

El primer objetivo planteado en nuestro estudio fue analizar si existía relación entre el nivel circulante de moléculas de origen endotelial (ICAM-1 y TM) con microalbuminuria y presencia de complicaciones de órganos diana en nuestra cohorte de enfermos.

Desde la década de los 60 se han realizado diferentes estudios que han puesto de manifiesto diferentes variables asociadas a lesión de órgano diana. Las más destacables y que a la vez cuentan con mayor evidencia, son el grado de control de la HTA, junto a la gravedad de la misma y el tiempo transcurrido desde el diagnóstico[92]. Todas ellas aumentan la probabilidad de morbimortalidad cardiovascular. La edad, el sexo, el tabaquismo, el sedentarismo, los niveles de HDL, los niveles de colesterol total, la presencia de diabetes mellitus y la obesidad también han sido identificadas como factores de riesgo independiente para el desarrollo de complicaciones de órgano diana[6]. Con el aumento de la edad de los pacientes, el riesgo aumenta a pesar de tener

mejor control de la tensión arterial que en individuos más jóvenes[95]. Los varones presentan mas incidencia de las variables asociadas a enfermedad ateromatosa[6].

A pesar de que es evidente que la mayoría de las variables contribuyen a la aparición de la lesión de órgano diana, en conjunto, los modelos basados en variables clásicas tienen poca sensibilidad y bajo poder de discriminación para predecirla [96].

De acuerdo con la hipótesis actual de la respuesta a la lesión, el daño de la célula endotelial es el punto de partida para el desarrollo de la enfermedad vascular ateromatosa. La disfunción endotelial, en muchos casos, sería a la vez el origen de la hipertensión arterial y la consecuencia de la presencia de unas cifras tensionales elevadas [13-14]. Por ello, se han analizado diferentes métodos para detectar in vivo la lesión de la célula endotelial antes de que aparezca enfermedad clínica. En diversos estudios, se ha sugerido que los niveles de glicoproteínas de origen endotelial (GE) podrían ser buenos biomarcadores de lesión endotelial. Si esta hipótesis es cierta, los niveles de estas GE deberían tener una buena correlación con los diversos factores de riesgo vascular conocidos y, por otra parte, deberían ser útiles para la detección de enfermedad vascular subclínica.

Hasta la fecha, se han realizado muy pocos estudios para analizar la posible relación entre moléculas endoteliales y patología vascular en población con hipertensión arterial esencial sin otros factores de riesgo. Pero dicha asociación se ha analizado en otros contextos de enfermedad vascular con resultados controvertidos:

-Karasek realizó un estudio con población con historia familiar de hiperlipidemia sin otro factor de riesgo cardiovascular, toda ella normotensa. Obtuvo un aumento significativo de s-ICAM en los pacientes con hiperlipidemia respecto a los que tenían colesterol normal. Y en los pacientes con historia familiar de hipercolesterolemia,

los niveles de s-ICAM presentaban una correlación significativa con el grosor de íntima media concluyendo que podía ser un marcador de riesgo vascular[61].

-Hassan, en una muestra de 110 pacientes con enfermedad cerebrovascular encontraron una elevación significativa de los niveles séricos de ICAM-1 y TM respecto a controles sanos, sin que hubiera diferencias significativas con otros factores de riesgo entre el grupo estudio y el control. Este aumento fue independiente a otros factores de riesgo como la HTA, el tabaquismo, la edad...[97].

-En una muestra de pacientes del estudio ARIC, se realizaron 3 grupos: enfermedad vascular clínica (incidentes de cardiopatía isquémica), enfermedad vascular subclínica (enfermedad carotídea medida por doppler) y controles sanos. La prevalencia de HTA, así como de otros factores de riesgo fue más elevada en los pacientes enfermos. Se evaluó el significado de V-CAM, E-selectina e ICAM. No hubo diferencias entre los niveles séricos de VCAM entre grupos, en cambio los niveles séricos de E-selectina e ICAM eran más elevados en los grupos con enfermedad vascular. Se encontraron niveles elevados en los pacientes con diabetes mellitus y hábito tabaquismo. En los pacientes hipertensos sólo se halló niveles séricos elevados de E-selectina. Tras ajustar por los factores de riesgo clásicos solo ICAM-1 presentaba una OR de 1.88 (1.41-2.50) de padecer un evento cardiovascular[98].

-Pradhan, en un estudio poblacional encontró que los niveles séricos de ICAM-1 elevados eran predictores de enfermedad vascular periférica [99].

-Ridker, realizó un estudio poblacional con más de 25000 mujeres posmenopáusicas y evaluó 12 parámetros séricos como predictores de enfermedad vascular incidente en un seguimiento de 3 años. Encontró que la PCR era el valor predictivo más fuerte, pero que aquellas mujeres en el cuartil alto de ICAM, presentaban un RR de 2.6 (1.3-5.1) de padecer un evento cardiovascular[100].

-Madej, en una muestra de 18 pacientes jóvenes con HTA esencial sin otro factor de riesgo, encontró niveles significativamente más elevados de s-ICAM respecto al grupo control de iguales características pero sin HTA[101]. Estos resultados son similares a los hallados por Buemi. En ambos estudios la HTA era de reciente diagnóstico y sin tratamiento [102]

-En un estudio realizado por Palomo, se encontró diferencias significativas entre las moléculas de adhesión entre el grupo de HTA y el control, concluyendo que existe una activación endotelial de inicio.[103]

-Miller, en una población más amplia, sin enfermedad vascular asociada y con HTA sin tratar, observa que las moléculas de adhesión tienen cierto grado de variabilidad en función del sexo?[104]

Estas discordancias entre los diferentes estudios podrían ser explicadas según si se ha tenido en cuenta en el diseño de los mismos, la presencia de enfermedad vascular o no en la selección de la muestra. Las distribuciones de estas moléculas en todos los estudios son parecidas a la encontrada en nuestro estudio. En conjunto, las variables relacionadas con los niveles de GE en HTA son: la presencia de enfermedad vascular prevalente, la insuficiencia renal prevalente [57] y si se encuentran asociadas a la presencia de marcadores de inflamación [105].

Otros autores, no encuentran relación entre microalbuminuria y marcadores séricos de disfunción endotelial (s-VCAM y FvW)[106-107]. En ninguno de estos estudios fue valorado los niveles séricos de ICAM.

En nuestro estudio, en primer lugar, se analizó la posible relación entre niveles de GE y la presencia de lesión de órgano diana en el momento del diagnóstico.

En relación al análisis realizado con los datos obtenidos en el momento del diagnóstico, nuestros resultados indican que en los enfermos con HTA esencial, los

niveles medios de GE circulantes no difieren significativamente de los observados en la población normotensa de edad y sexo comparable.

A pesar de la ausencia de diferencia significativa entre niveles medios, la distribución en ambos grupos estudiados fue significativamente distinta. Si bien la mayor parte de los hipertensos presentaron niveles de GE circulantes similares a la población normotensa, la distribución de las mismas tuvo una forma bimodal, de manera que se identificó un grupo de enfermos que presentaron niveles elevados de GE. El análisis de la correlación entre los niveles de las diferentes GE analizadas, indicó la existencia de coeficientes de correlación elevados entre ellas. Esta elevada correlación no fue continua sino bimodal, de manera que los hipertensos con niveles altos de una determinada glicoproteína, presentaron niveles elevados de las demás. Por otra parte, las correlaciones con factores de riesgo vascular clásicos fueron muy similares para todas las GE analizadas.

La clara relación observada entre niveles de GE y factores de riesgo clásicos, sugiere que el incremento en los niveles de las primeras es parcialmente atribuible a la lesión y/o activación de la célula endotelial. Sin embargo, únicamente disponemos de datos bioquímicos sobre esta asociación ya que en el estudio no se realizaron pruebas para medir la función endotelial in vivo.

En nuestro estudio, no encontramos asociación estadística entre retinopatía, hipertrofia ventricular izquierda y niveles de GE pero observamos una relación significativa entre marcadores de disfunción endotelial y microalbuminuria. Esta relación no fue continua, sino atribuible a la presencia de un grupo de enfermos que presentaron niveles elevados de ambos (cuartil alto de GE (ICAM-1) y microalbuminuria). La relación entre microalbuminuria y GE que hemos apreciado en tiene especial interés ya que permite identificar dos subgrupos de enfermos hipertensos

con microalbuminuria, en función de la presencia o no de niveles de biomarcadores endoteliales elevados, lo que suscita el interés de analizar si la patogenia de la microalbuminuria es similar en ambos grupos y si, a largo plazo, el riesgo de desarrollar eventos cardiovasculares es distinto en cada grupo.

Aunque con algunas diferencias, nuestros resultados son semejantes a los descritos en una muestra de enfermos con HTA esencial leve no tratada en los que se describieron niveles de ICAM-1 y VCAM más elevados que en el grupo control normotenso. En dicho estudio, los pacientes hipertensos que presentaban microalbuminuria tenían niveles de moléculas endoteliales más elevados de los que no presentaban microalbuminuria. [59]

En nuestro estudio las variables relacionadas con el riesgo de presentar micro/macroalbuminuria durante el seguimiento fueron el grado de presión arterial sistólica, el IMC al inicio del estudio y el pertenecer al cuartil alto de endotelio, además de presentar microalbuminuria al inicio del estudio en el caso de progresar a macroalbuminuria. En un grupo de pacientes con diabetes mellitas, el riesgo de incidencia de proteinuria se relacionó de la misma manera con el IMC y el grado de presión arterial sistólica, y el pertenecer a los cuartiles altos de endotelio, inflamación y t-PA, poniendo en evidencia la microalbuminuria como marcador de daño endotelial[108]. En el HOORN Study la presencia de hipertensión y diabetes aumentaba el riesgo de desarrollar microalbuminuria, no obstante hallaron como predictores independientes los niveles séricos de VCAM y PCR pero no de FVW[106], en este caso se trataba de un estudio poblacional.

El segundo objetivo de nuestro estudio, fue analizar la relación entre el estudio in vivo del sistema coagulación/fibrinólisis y la presencia de complicaciones de órganos diana en el momento del diagnóstico.

La distribución de los biomarcadores de coagulación/fibrinólisis observada en la muestra de enfermos hipertensos fue similar a la descrita anteriormente para GE de tal manera que si bien no se apreciaron diferencias significativas en los niveles medios entre enfermos hipertensos y controles, se apreció la existencia de un grupo de enfermos que presentaron niveles elevados de PAI-1 y FPA. Dada la correlación existente entre PAI-1, factores de riesgo vascular y GE, puede sugerirse que hay un determinado grupo de enfermos hipertensos que presentan signos de aumento en la formación de fibrina in vivo coincidiendo con niveles elevados de inhibidores de la fibrinólisis. En relación a la asociación con microalbuminuria, nuestros resultados son similares a los obtenidos con los marcadores endoteliales. No existen diferencias significativas entre los niveles medios circulantes de los marcadores de fibrinólisis entre el grupo de enfermos hipertensos con microalbuminuria y sin microalbuminuria, pero si una distribución bimodal que identificaba un grupo de pacientes con niveles séricos elevados de marcadores de fibrinólisis.

En diversos estudios publicados en los últimos años, se ha descrito que pacientes con enfermedad vascular clínica es posible detectar alteraciones en los niveles circulantes de proteínas relacionadas con el sistema fibrinolítico que se han relacionado con la presencia de disfunción endotelial.

Hay pocos estudios realizados en los que se incluyan enfermos con características similares a los incluidos en el nuestro (aparentemente libre de enfermedad y como única condición ser HTA). DeSouza et al describieron resultados similares en pacientes hipertensos sin otros factores de riesgo. [109]. En estudios de base poblacional como el MONICA se describen niveles medios de fibrinógeno y PAI-1 significativamente más elevados en pacientes hipertensos [63, 110]. Por otra parte, en una cohorte del estudio de Framingham, hallaron una alteración en el sistema

fibrinolítico en población hipertensa sin tratamiento o en hipertensos borderline. La relación entre hipertensión arterial y niveles circulantes de PAI-1 se ha intentado explicar como consecuencia de la elevada prevalencia de síndrome metabólico en la población hipertensa [111]. Y, de hecho, hay múltiples estudios que relacionan la microalbuminuria con alteración del sistema fibrinolítico, en enfermos diabéticos lo que se explicaría por la relación ampliamente demostrada entre hiperglicemia, hiperinsulinemia y niveles de PAI-1[112-114]. Trifiletti et al valoran el estado protrombótico en diferentes estadios de HTA respecto controles sanos y encuentran que a mayor grado de HTA hay un mayor estado procoagulante[115]. Furie et al en un estudio para valorar el estado de activación de la hemostasia en enfermos con AVC isquémicos encontraron una correlación positiva entre HTA, edad y sexo mujer con niveles elevados del fragmento F1.2 de protrombina[116].

En un estudio reciente, publicado en el 2007, se halló que tanto los niveles de PAI-1 como la microalbuminuria eran predictores de desarrollar hipertensión en la población general y no se apreció asociación estadística entre ambos.[117]. En un estudio en pacientes con nefropatía diabética la reducción de la TA disminuía los niveles séricos de PAI-1[118]

Existen pocos estudios que relacionan un estado procoagulante con la presencia de microalbuminuria y el aumento del grosor de la íntima media en pacientes hipertensos sin complicaciones clínicas [119-120].

El tercer objetivo de nuestro estudio fue analizar de forma prospectiva si el nivel circulante de ICAM-1, TM, PAI-1, TPA-1, los complejos TPA/PAI-1, FPA, complejos T-AT y D-dímero eran predictores independientes de morbilidad cardiovascular en el grupo de enfermos estudiado.

La tasa de morbilidad cardiovascular observada fue de 15,1 casos/1000/año, lo que representa una incidencia mayor respecto a estudios poblacionales españoles y a la descrita en el estudio HOT (8.5 eventos/1000pac/año). En relación al estudio HOT, las diferencias podrían ser debidas a los criterios de definición de enfermedad cardiovascular ya que, a diferencia de nuestro estudio, en el estudio HOT se excluyeron las formas menores de cardiopatía isquémica, como la angina y la enfermedad vascular periférica, y no se contabilizó la aparición de insuficiencia cardiaca. El análisis por categoría de enfermos con función renal normal, no sería muy distinto de nuestro estudio [121].

A pesar de que no fue objetivo del estudio, se evaluó la incidencia de microalbuminuria a lo largo del estudio, siendo de 15,07 casos por 1000pac/año. La prevalencia al final del seguimiento fue del 25,15% [67]. Estas cifras se ajustan más a las descritas en diferentes estudios, probablemente por la relación que tiene la presencia de microalbuminuria con la duración de la HTA y/o enfermedad cardiovascular [122]. En un estudio realizado por Pascual, se observó una tasa ligeramente superior a la nuestra 2.5caso por 100 pacientes/año. Los pacientes de dicho estudio presentaban cifras de TA similares en los 2 grupos sin diferencias significativas entre los valores de IMC, ni en glicemia. Los autores de dicho estudio encuentran como diferencias que los pacientes en que apareció microalbuminuria presentaban unas cifras de excreción urinaria al inicio del estudio superior al grupo que no desarrolló microalbuminuria [123]. En un estudio realizado por Kato, evaluaron la incidencia de microalbuminuria en un grupo de pacientes HTA en función de la presencia de bata blanca, de HTA enmascarada o HTA. El grupo de pacientes con HTA enmascarada presentó mayor incidencia de microalbuminuria, el análisis multivariado mostró como variables de riesgo el tiempo de evolución de HTA así como la presión arterial media sistólica [124].

La tasa de incidencia para diabetes mellitas en nuestro estudio fue de 3.3 casos/1000pac/año. En una muestra del estudio ARIC se evaluó la incidencia de diabetes en función de padecer HTA o no. La tasa de incidencia fue claramente superior a nuestro estudio. En el caso de grupo de HTA fue de 29,1 casos/1000pac/año y en caso de los no hipertensos fue de 12 casos/1000pac/año; en el estudio ASCOT la tasa de incidencia de diabetes de novo fue de 18.1/1000pac/año [125-126]. Probablemente nuestra tasa es inferior a los estudios poblacionales por presentar nuestra muestra un IMC por debajo al descrito en estudios previos así como presentar una glicemia basal inferior a 110mg/dl al inicio del estudio (89 DE 13.75), siendo estas dos variables las mas importantes para el desarrollo de diabetes de novo. Entre otros factores de riesgo encontramos el síndrome metabólico, resistencia a la insulina y niveles elevados de ALT (alanin transferasa)[126-128]. La incidencia de diabetes de novo se asocia desde hace años con el tipo de tratamiento hipotensor. Inicialmente se atribuyó un riesgo más elevado al uso de diuréticos, no obstante en estudios más recientes los resultados no son concluyentes. Un reciente metanálisis del 2007 refiere que los IECAs y ARA II son los fármacos con menor riesgo de desarrollar diabetes mellitus, seguido de los antagonistas del calcio y el placebo. Por último los diuréticos y los betabloqueantes son los fármacos con mayor riesgo de desarrollar-la[129]. En cambio sí se confirma que el uso de betabloqueantes aumenta el riesgo de aparición de diabetes hasta un 28%[125-127]. No obstante en la actualidad no existe ninguna evidencia de que exista un hipotensor (IECAs o ARA II) que permita prevenir la aparición de diabetes en estos enfermos[130]. En nuestra muestra de enfermos si los analizamos en función si toman diuréticos o no observamos que en los pacientes que toman diurético presentan un aumento absoluto de la glicemia al final del estudio así como un incremento de la glicemia basal por año de seguimiento. No obstante en este estudio no se realizó test de

tolerancia oral a la glucosa en aquellos pacientes con glicemias entre 110-125 de forma repetida, por lo que podría ser otro motivo por el que nuestra tasa fuera inferior dado que no identificaron adecuadamente a los pacientes que presentan intolerancia a la glucosa y/o diabetes. Tampoco se realizó un seguimiento del índice de masa corporal que relacionara su aumento con el incremento de las glicemias.

La incidencia de diabetes mellitus aumenta el riesgo cardiovascular en pacientes con HTA; y ésta es más importante en pacientes con signos de disfunción endotelial.[131].

En el caso de la fibrilación auricular (FA), la tasa de incidencia fue de 1.65 casos/1000 pac/año. En un estudio de mujeres mayores de 45 años, sanas, el riesgo de incidencia de FA aumentaba con un peor control de la TA[132]. En un estudio realizado por Mitchell con una muestra de pacientes procedentes del estudio de Framingham, encuentra una tasa de incidencia de FA entre 5.1 y 23.3 casos/1000pac/año en función del grado de presión de pulso. A peor control de la TA más incidencia de FA, este motivo podría explicar una tasa inferior en nuestro estudio, ya que se compone de pacientes de reciente diagnóstico de grado leve y con mayor control TA[133]. En un subgrupo del estudio LIFE mostró una reducción de la tasa de incidencia al reducir el grado de HVI. No obstante la tasa de FA en este estudio persiste siendo superior a la nuestra (14.1 casos/1000pac/año), probablemente porque en nuestro estudio la prevalencia de HVI es inferior (35%) respecto al estudio LIFE (100%)[134].

La tasa de incidencia de insuficiencia cardíaca en nuestro estudio fue de 2.75 casos/1000pac/año. En una cohorte del estudio de Framingham se observó que la presión aórtica sistólica y la presión de pulso eran unos de los principales factores de riesgo de padecer un episodio de insuficiencia cardíaca[135]. En un subgrupo de enfermos del estudio LIFE se observó un 3 % de pacientes con un primer episodio de

insuficiencia cardíaca, y este subgrupo presentó un aumento de la mortalidad [136]. Como en el caso de la FA, el riesgo de insuficiencia cardíaca aumenta con la HVI. En nuestro caso la prevalencia de HVI es inferior que en el estudio LIFE. El grado y el tiempo de HTA fue peor que en los enfermos de nuestro estudio. En referencia a los regímenes terapéuticos, aquellos pacientes que reciben un IECA presentan una reducción en la tasa de incidencia de insuficiencia cardíaca, y en general de cualquier evento cardiovascular[137].

En el análisis univariado, las variables asociadas a incidencia de eventos cardiovasculares coinciden con las descritas en la mayor parte de los estudios. El riesgo cardiovascular es mayor en hombres y se asocia significativamente a HVI, condición de fumador activo, mal control de la TA y la presencia de microalbuminuria [122].

Además, nuestros datos ponen en evidencia que el mayor riesgo, corresponde a los enfermos que presentan niveles de GE en el cuartil alto, especialmente si además presentan microalbuminuria, mientras que los enfermos que sólo presentan microalbuminuria, presentan un riesgo de eventos cardiovasculares significativamente inferior [122]. Estos datos, se mantienen en el análisis multivariado, en el que se aprecia que tras ajustar por las demás variables, son predictoras de morbilidad cardiovascular el cuartil alto de moléculas endoteliales, la albuminuria y la interacción entre ambas, que actúa incrementando el riesgo global. Éste incremento es aún mayor cuando en el modelo predictivo se realiza con la proteinuria que aparece a lo largo del estudio. En conjunto, estos datos sugieren que en los enfermos hipertensos, el significado pronóstico de la microalbuminuria como indicador de riesgo vascular, depende de la presencia o no de lesión/ disfunción endotelial valorada mediante un biomarcador subrogado[89, 108]. Aunque en diferentes estudios epidemiológicos se ha confirmado que la presencia de microalbuminuria es un predictor de riesgo vascular

independiente, nuestros datos sugieren que, en enfermos hipertensos, la presencia de microalbuminuria no debe ser interpretada como un signo inequívoco de disfunción endotelial en todos los enfermos.

El hecho de que en nuestro estudio los enfermos con microalbuminuria aislada no presenten una mayor incidencia de eventos cardiovasculares durante el período de seguimiento, debe hacer considerar la posibilidad de que en algunos hipertensos, la microalbuminuria no sea la consecuencia de una lesión endotelial de los capilares glomerulares sino un signo residual de la presencia de una enfermedad renal parenquimatosa previa, en cuyo caso, carecería de valor como biomarcador de lesión endotelial renal. Por el contrario, el grupo de enfermos con mayor riesgo de eventos cardiovasculares es el que presenta a la vez microalbuminuria y niveles elevados de GE, lo que sugiere que, en estos casos, la microalbuminuria podría aparecer como consecuencia de la presencia de una disfunción endotelial. Nuestros datos sugieren que la valoración conjunta de la microalbuminuria y del nivel circulante de GE podría ser útil para diferenciar entre ambas situaciones.

Un dato destacable en nuestro estudio es que un nivel de GE en el cuartil alto supone un aumento del riesgo cardiovascular aún en ausencia de microalbuminuria. Estos datos, son similares a los descritos en un estudio en el que se analizó el valor predictivo de V-CAM, E-Selectina y I-CAM en la incidencia de eventos cardiovasculares y se apreció que sólo los niveles de ICAM-1 se relacionaban con la presencia de placas complicadas y eventos cardiovasculares [98]. En otro estudio, Ridker et al describieron un riesgo relativo aumentado (RR 2.4, P: 0.004) de padecer patología cardiovascular en mujeres posmenopáusicas que tenían cuartil alto de s-ICAM-1[100]. En cambio en estudios más recientes, a pesar de encontrar niveles más elevados de ICAM en el momento del evento, no hallaron relación entre el grado de

estenosis de la carótida, poniendo en duda su capacidad predictora [138]. Así mismo en un metanálisis publicado en el año 2001 se concluyó en que a pesar de existir niveles séricos más elevados de ICAM, VCAM, P-selectina y E-selectina en el grupo de pacientes que padecieron un evento cardiovascular, la capacidad predictiva de GE no se mantuvo tras ajustar por los factores riesgo clásico [60]. Probablemente las diferencias entre los diferentes estudios se encuentren en el tamaño de la muestra, en el criterio de definición de enfermedad cardiovascular y en la metodología de determinación de las moléculas de adhesión.

En el estudio ECAT hallaron niveles de tPA ag. y PAI ag. elevados, con actividad del t-PA disminuida en el grupo de enfermos que realizaron un evento cardiovascular. En este estudio, sin embargo, todos los enfermos presentaban patología cardiovascular [139]. Fadl et al realizaron un estudio en enfermos que ya habían padecido un infarto de miocardio. Clasificaron los enfermos en dos grupos, hipertensos y no hipertensos, y apreciaron que los pacientes que persistían hipertensos a los 2 meses del infarto presentaban un estado procoagulante superior a los no hipertensos [140]. En el Caerphilly Study hallaron niveles elevados de D-dímero en pacientes que posteriormente padecieron cardiopatía isquémica (IAM), no obstante, el PAI-1 (actividad) y el t-PA (antígeno) no fueron predictores de enfermedad cardiovascular [64]. Jansson et al, en pacientes con cardiopatía isquémica con enfermedad coronaria severa confirmada por cateterismo cardiaco, describieron que niveles elevados de t-PA eran predictores de la presencia de enfermedad cardiovascular [141].

7. - CONCLUSIONES

1.-Los niveles circulantes de GE tienen una relación significativa con la presencia de microalbuminuria. No es una relación continua, si no que identifica un subgrupo de pacientes hipertensos que presentan microalbuminuria y niveles elevados de moléculas de origen endotelial. La coexistencia de las dos variables podría ayudar a distinguir si el origen de la microalbuminuria es por disfunción endotelial o por proceso parenquimatoso previo. No hemos encontrado relación entre éstas con el resto de lesiones en órgano diana (retinopatía e HVI), probablemente debido a que el diagnóstico de la HTA era reciente y de leve gravedad.

2.-En relación a los marcadores de fibrinólisis mantienen una relación no continua con la microalbuminuria. Tampoco en este caso, los pacientes que se encuentran en el cuartil elevado de moléculas de fibrinólisis tienen relación con la presencia de complicaciones de órganos diana. Los pacientes que presentan microalbuminuria y se encuentran en el cuartil alto de GE presentan un estado procoagulante.

3.-El grupo de pacientes que se hallan en el cuartil elevado de GE presentan un riesgo elevado de morbilidad cardiovascular. Éste aumenta de forma significativa cuando coexiste la microalbuminuria. La presencia de microalbuminuria por sí sola no aumenta el riesgo cardiovascular. Los pacientes en el cuartil alto de las moléculas del sistema fibrinolítico presentan un aumento del riesgo cardiovascular. La incidencia de complicaciones cardiovasculares así como la incidencia de diabetes mellitus de novo no difieren de los resultados de los estudios publicados.

En síntesis, nuestros datos permiten sugerir la hipótesis de que dentro de los enfermos hipertensos con microalbuminuria, existe un grupo de pacientes con

activación del endotelio y un estado procoagulante, donde la presencia de microalbuminuria se debe a disfunción endotelial. Estos pacientes presentan un riesgo elevado de morbimortalidad respecto al grupo de pacientes hipertensos con microalbuminuria pero sin elevación de moléculas de origen endotelial. En estos casos la microalbuminuria no tendría relación con disfunción endotelial y podría ser secuela de algún proceso renal anterior.

8.- BIBLIOGRAFIA

1. Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, de la Cruz Troca JJ et al. *Blood pressure in Spain. Distribution, awareness, control and benefits of a reduction in average pressure.* Hypertension, 1998. **32**: p. 998-1002.
2. Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Ruilope LM et al. *Hypertension magnitude management in the elderly population of Spain.* J Hypertens, 2002. **20**: p. 2157-64.
3. Vara-González L, Muñoz P, Sanz S. *Prevalencia, detección, tratamiento y control de la hipertensión arterial en Cantabria en 2002.* Rev. Esp. Salud Pública, 2007. **81** (2 mar-abr).
4. *Guía Española de la HTA 2005.* Hipertensión 2005. **22** (Supl 2).
5. González-Juanatey JR et al. *Impacto de la hipertensión en las cardiopatías en España. Estudio CARDIOTENS 1999.* Rev Esp Cardiol., 2001. **54**: p. 139-149.
6. Marin A, Medrano MJ, González J et al. *Risk of ischemic Heart disease and acute myocardial infarction in a Spanish population: observational prospective study in a primary-care setting.* BMC Public Health, 2006. **38**(6).
7. Kannel WB, Schwartz MJ, McNamara PM. *Blood pressure and risk of coronary heart disease: The Framingham Study.* Chest 1969. **56**: p. 43-52.
8. Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Graciani A. *Mortality attributable to cardiovascular risk factors in Spain.* European Journal of Clinical nutrition, 2003. **57** (Suppl 1): p. S18-S21.
9. Medrano MJ, Pastor-Barriuso R, Boix R et al. *Coronary disease risk attributable to cardiovascular risk factors in the Spanish population.* Rev Esp Cardiol., 2007. **60**(12): p. 1250-6.
10. Redón J, Cea-Calvo J, Lozano JV et al. *Blood pressure and estimated risk of stroke in the elderly population of Spain.* Stroke, 2007 **38**(4): p. 1167-73.
11. González N, Casado JM, Moraleda S et al. *¿Controlamos mejor a nuestros pacientes hipertensos que hace 5 años?* Medifam, 2001. **11**(9 Madrid oct-nov).
12. Ninomiya T, Kubo M, Yonemoto J et al. *Prehypertension increases the risk for renal arteriosclerosis in autopsies: The Hisayama Study.* J Am Soc Nephrol, 2007. **18**: p. 2135-2142.
13. Endemann DH and Schiffrin EL. *Endothelial dysfunction.* J Am Soc Nephrol, 2004. **15**: p. 1983-1992.

14. Ross R. *Arteriosclerosis- an inflammatory disease*. . N Engl J Med, 1999: p. 115-126.
15. Villar IC, Francis S, Webb A et al. *Novel aspects of endothelium-dependent regulation of vascular tone*. Kidney Int, 2006.**70**: p. 840-53.
16. Vega DI *La disfunción endotelial: Una propuesta hacia el cambio*. Available from: www.intermedicina.com <<http://www.intermedicina.com>>
17. Rebeca et al. *Nitric Oxide*. Molecular medicine today, 1995. **8**(1).
18. Paniagua OA, Bryant MB, Panza JA. *Role of Endothelial Nitric Oxide in Shear Stress-Induced Vasodilatation of Human Microvasculature*. . Circulation 2001.**103**: p. 1752-60.
19. Hynynen MM and Khalil RA. *The vascular endothelin system in hypertension-Recent patents and discoveries*. Recent Patents Cardiovasc Drug Discov., 2006. **1**(January 1): p. 95-108.
20. Foncea R, Carvajal C, Almarza C et al. *Endothelial cell oxidative stress and signal transduction*. Biol Res, 2000. **33**(2): p. 89-96.
21. Febbraio M, Hajjar DP, Silverstein RL. *CD36: a class B scavenger receptor involved in angiogenesis, atherosclerosis, inflammation, and lipid metabolism*. J. Clin. Invest, 2001. **108**: p. 785–791.
22. Erridge C, Attina T, Spickett CM et al., *A high-fat meal induces low-grade endotoxemia: evidence of a novel mechanism of postprandial inflammation*. Am J Clin nutr, 2007. **86**: p. 1286-92.
23. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. *Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis*. Arteriosclerosis 1988. **1**(8): p. 1-21.
24. Buhman KK, Accad M, Novak S et al *Resistance to diet-induced hypercholesterolemia and gallstone formation in ACAT2-deficient mice*. Nat Med 2000. **12**(6): p. 1341-7.
25. Raabe M, Véniant MM, Sullivan MA et al. *Analysis of the role of microsomal triglyceride transfer protein in the liver of tissue-specific knockout mice*. J Clin Invest, 1999. **103**(9): p. 1287-98.
26. Rader DJ, Jeffrey MH, Bryan Brewer H. *Quantification of plasma apolipoproteins in the primary and secondary prevention of coronary artery disease*. Ann Intern Med 1994. **120**(12): p. 1012-25.
27. Stary HC, Chandler AB, Glasgow S. *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*. Circulation., 1994. **89**: p. 2462-2478.

28. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE et al. *A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis.* Circulation, 1995. **92**: p. 1355-1374.
29. Hansson GK. *Inflammation, atherosclerosis and coronary artery disease.* N Engl J Med, 2005. **352**: p. 1685-95.
30. Morawietz H. *LOX-1 receptor as a novel target in endothelial dysfunction and atherosclerosis.* Dtsch Med Wochenschr, 2010. **135**(7): p. 308-12.
31. Rosemberg RD and Aird WC. *Vascular-Bed-Specific Haemostasis and hypercoagulable states.* N Eng J Med, 1999. **340**(May 20): p. 1555-64.
32. Kohler HP, Grant PJ. *Plasminogen-activator inhibitor type I and coronary artery disease.* N Eng J Med, 2000. **342**(june 24): p. 1792-1801.
33. Graham M, Daly LE, Refsum HM. *Plasma homocysteine as a factor for vascular disease: the European Concerten Action Project.* JAMA 1997. **277**: p. 1775-81.
34. Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC et al. *A prospective Study of plasma homocysteine and risk of myocardial infarction in US physicians.* JAMA 1992. **268**: p. 877-81.
35. Verhoef P, Hennekens CH, Malinow MR et al. *A prospective study of plasma homocysteine and risk of ischemic stroke.* Stroke 1994. **25**: p. 1924-30.
36. Arnesen E, Refsum HH, Bonna KH. *Serum total homocysteine and coronary heart disease.* Int J Epidemiol, 1995. **24**: p. 704-9.
37. Welch GN, Loscalzo J. *Homocysteine and atherothrombosis.* N Eng J Med, 1998. **338** (April 15): p. 1042-50.
38. Suliman ME, Bárány P, Kalantar-Zadeh K. *Homocysteine in uraemia - a puzzling and conflicting story.* Nephrol Dial Transplant 2005. **20**: p. 16-21.
39. Misra HP. *Generation of superoxide free radical during the autooxidation of thiol.* J Biol Chem, 1974. **249**: p. 2151-5.
40. Rowley DA, Halliwell B. *Superoxide-dependent formation of hydroxyl radicals in the presence of thiol compounds.* FEBS lett, 1982. **138**: p. 33-6.
41. Loscalzo J. *The oxidant stress of hyperhomocysteinemia.* J Clin Invest, 1996. **98**: p. 5-7.
42. Ratnoff OD. *Activation of Hageman factor by l-homocysteine.* Science 1968. **162**: p. 1007-9.
43. Rodgers GM, Kane WH. *Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator.* J Clin Invest 1986. **77**: p. 1909-16.

44. Lentz SR, Sadler JE. *Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the the thrombogenic agent homocysteine.* J Clin Invest, 1991. **88**: p. 1906-14.
45. Fryer RH, Wilson BD, Gubler DB. *Homocysteine, a risk factor for premature vascular disease and thrombosis, induces tissue factor activity in endothelial cells.* Arterioscl thromb, 1993.**13**(9): p. 1327-33.
46. Nishinaga M, Ozawa T, Shimada K. *Homocysteine, a thrombogenic agent, suppresses anticoagulant heparan sulphate expression in culture porcine aortic endothelial cells.* . J Clin Invest, 1993(92): p. 1381-6.
47. Welch GN, Upchurch GR, Farivar RS et al. *Homocysteine-induced nitric oxide production in vascular smooth muscle cells by NF-kb dependent transcriptional activation of Nos2.* . Proc Am Assos Phys 1998. **110** (1): p. 22-31.
48. Stamler JS, Osborne JA, Jaraki O et al. *Adverse vascular effects of homocysteine are modulated by endothelium-derived relaxing factor and related oxides of nitrogen.* J Clin Invest, 1993. **91**: p. 308-18.
49. McMillan DE. *Blood flow and the localization of atherosclerotic plaques.* Stroke 1985. **16**(4): p. 582-7.
50. Frenette PS, Wagner DD. *Adhesion molecules- Part II. Blood vessels and blood cells.* N Eng J Med, July 1996. **335**(1): p. 43-45.
51. Hansson GK, Jonasson L, Seifert PS et al. *Immune mechanisms in atherosclerosis.* Arteriosclerosis 1989. **9**(5): p. 567-78.
52. Endemann DH, Schifflin EL. *Endothelial dysfunction.* J Am Soc Nephrol, 2004. **15**(8): p. 1983-1992.
53. Rodríguez JA, Orbe J, Paramo JA et al. *Metalloproteases, Vascular Remodeling, and Atherothrombotic Syndromes.* Rev Esp Cardiol., 2007. **60**(9): p. 959-67.
54. Jones CB, Sane DC, Herrington DM et al. *Matrix metalloproteinases: A review of their structure and role in acute coronary syndrome.* Cardiovascular Research, 2003 **59**(4) p. 812–823.
55. Bombeli T, Schwartz BR Harban JM *Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb-IIIa dependent bridging mechanism and novels roles for endothelial intercellular adhesion molecule I (ICAM-1, $\alpha_v\beta_3$ integrin, and GPIIb).* J Exp Med 1998.**187**(3): p. 329-39.
56. Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson R et al. *IL-10, IL-6 and TNF-a: Central factors in the altered cytokine network of uraemia- The good, the bad and the ugly.* . Kidney International, 2005. **Vole 67**(4): p. 1216-33.
57. Cottone S, Mulè G, Arnato F et al. *Amplified biochemical activation of endothelial function in hypertension associated with moderate to severe renal failure.* J Nephrol, 2002. **15**: p. 643-648.

58. Rattazi M, Puato M, Faggin E et al. *New markers of accelerated atherosclerosis in end-stage renal disease.* J nephrol 2003. **16**(1): p. 11-20.
59. Cottone S, Mulè G, Nardi E. *Microalbuminuria and early endothelial activation in essential hypertension.* J Hum Hypertens, 2007. **21**(2): p. 167-72.
60. Malik I, Danesh J, Whincup P et al. *Soluble adhesion molecules and prediction of coronary heart disease: a prospective study and meta-analysis* The Lancet, 2001. **358**(sep 22).
61. Karásek D, Vaverková H, Halenka M et al. *Soluble cell adhesion molecules S-VCAM and S-ICAM in subjects with familial combined hyperlipidemia.* Biomed. Papers, 2005. **149**(1): p. 101-108.
62. Ferri C, Bellini C, Desideri G et al. , *Clustering of endothelial markers of vascular damage in human SALT-sensitive hypertension.* Hypertension, 1998.**35**(5): p. 862-868.
63. Eliasson M, Asplund K, Evrin E et al. *Hyperinsulinemia predicts low tissue plasminogen activator activity in a healthy population: The Northern Sweden MONICA Study.* . Metabolism, 1994 Dec.**43**(12): p. 1579-86.
64. Lowe GD, Yarnell JW, Sweetnan PM et al. *Fibrin D-dimer, Tissue Plasminogen activator, plasminogen activator inhibitor, and the risk of major ischemic Heart disease in the Caerphilly Study.* Thromb Haemost 1998. **19**: p. 129-33.
65. Arikian E, Sen S. *Endothelial Damage and Haemostatic Markers in Patients with Uncomplicated Mild-to-Moderate Hypertension and Relationship with Risk Factors.* Clin Appl Thrombosis/Hemostasis 2005. **11**(2): p. 147-159.
66. Mogensen CE. *Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes.* N Engl J Med, 1984. **310**: p. 356-360.
67. Tagle R, Acevedo M, Vidt DG. *Microalbuminuria: Is it valid predictor of cardiovascular risk?* Cleveland Clinic Journal of medicine, 2003. **70**(3): p. 255-60.
68. Årnlöv J, Evans JC, Meigs JB et al. *Low-Grade Albuminuria and Incidence of Cardiovascular Disease Events in Nonhypertensive and Nondiabetic Individuals: The Framingham Heart Study.* Circulation 2005. **112**(7): p. 969-975.
69. Irie F, Iso H, Sairenchi T et al. *The relationship of proteinuria, serum creatinine, glomerular filtration rate with cardiovascular disease mortality in Japanese general population.* Kidney Int, 2006. **69**(7): p. 1264-71.
70. Konta T, Hao Z, Abiko H et al. *Prevalence and risk factor analysis of microalbuminuria in Japanese general population: the Takahata study.* Kidney Int, 2006. **70**(4): p. 751-6.

71. Caglar K, Yilmaz MI, Sonmez A et al. *ADMA, proteinuria, and insulin resistance in non-diabetic stage I chronic kidney disease*. *Kidney Int*, 2006. **70**(4): p. 781-7.
72. Parving HH, Mogensen CE, Jensen HA et al. *Increased urinary albumin-excretion rate in benign essential hypertension*. *Lancet*, 1974. **1**(1190-1192).
73. Jalal S, Sofi FA, Alai MA et al. *Prevalence of microalbuminuria in essential hypertension: A study of patients with mild to moderate hypertension*. *Indian J Nephrol*, 2001. **11**: p. 6-11.
74. Henareh L, Jogestrand T, Agewall S et al. *Microalbuminuria in patients with previous myocardial infarction*. *Kidney Int*, 2006. **69**(1): p. 178-83.
75. Clement DL, De Buyzere ML, De Bacquer DA et al. *Prognostic Value of Ambulatory Blood-Pressure Recordings in Patients with Treated Hypertension*. *N Eng J Med*, 2003. **348**(24): p. 2407-15.
76. Pickering TG, Shimbo D, Haas D. *Ambulatory Blood-Pressure Monitoring*. *N Eng J Med*, 2006. **354**(22): p. 2368-74.
77. García-Ortiz L, Gómez-Marcos MA, Martín-Moreiras J et al. *Pulse pressure and nocturnal fall in blood pressure, cardiac and renal target organ damage in hypertensive patients (LOD-RISK study)*. *Blood Press Monit*, 2009. **14**(4): p. 145-51.
78. Mallion JM, Baguet JP, Siché JP et al. *Clinical value of ambulatory blood pressure monitoring*. *J Hypertens*, 1999. **17**(5): p. 585-95.
79. Bobrie G, Clerson P, Ménard J et al. *Masked hypertension: a systematic review*. *J Hypertens*, 2008. **26**(9): p. 1715-25.
80. Konstantopoulou AS, Konstantopoulou PS, Papargyriou IK et al. *Masked, white coat and sustained hypertension: comparison target organ damage and psychometric parameters*. *J Hum Hypertens*, 2010. **24**(3): p. 151-7.
81. Hänninen MR, Niiranen TJ, Puukka PJ et al. *Comparison of home and ambulatory blood pressure measurement in the diagnosis of masked hypertension*. *J Hypertens*, 2010. **8**: p.1554-1564.
82. Williams B, Lacy PS, Thom SM et al. *Differential Impact of Blood Pressure–Lowering Drugs on Central Aortic Pressure and Clinical Outcomes Principal Results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) Study*. *Circulation*, 2006. **113**(9): p. 1213-1225.
83. Alonso FJ, Rodríguez GL, Llisteri JL et al. *Conducta del médico de atención primaria ante el mal control de la presión arterial*. *Aten Primaria.*, 2005. **4**(36): p. 204-10.

84. Hajjar I, Kotchen TA. *Trends in Prevalence, Awareness, Treatment, and Control of Hypertension in the United States, 1988-2000*. JAMA, 2003. **290**(2):p.199-206.
85. Bakris GL, Sarafidis PA, Weir MR et al. *Renal outcomes with different fixed-dose combination therapies in patients with hypertension at high risk for cardiovascular events (ACCOMPLISH): a prespecified secondary analysis of a randomised controlled trial*. Lancet, 2010;375(9721):p.1173-81.
86. Jamerson K, Weber MA, Bakris GL et al. *Benazepril plus Amlodipine or Hydrochlorothiazide for Hypertension in High-Risk Patients*. N Eng J Med, 2008. **359**(23): p. 2417-28.
87. Ong HT. *Cardiovascular outcomes in the comparative hypertension drug trials: more consensus than controversy*. Singapore Med J 2008. **49**(8): p. 599-606.
88. Chobanian AV, Bakris GL, Black HR et al. *Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure*. Hypertension., 2003. **42**: p. 1206–1252.
89. De Zeeuw D, Parving HH, Henning RE. *Microalbuminuria as an Early Marker for Cardiovascular Disease*. J Am Soc Nephrol, 2006. **17**(8): p. 2100-2105.
90. Pontremoli R, Leoncini G, Viazzi F et al. *Role of microalbuminuria in the assessment of cardiovascular risk in essential hypertension*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16**(S1): p. S39-S41.
91. Cerasola G, Cottone S, Mulé G et al. *Microalbuminuria, renal dysfunction and cardiovascular complication in essential hypertension*. Journal of Hypertension, 1996. **14**(7): p. 915-20.
92. Knight EL, Kramer HM, Curhan GC. *High-normal blood pressure and microalbuminuria*. Am J Kidney Dis., 2003. **41**(3): p. 588-95.
93. Armario P, Oliveras A, Hernández del Rey R et al. *Prevalence of target organ damage and factors associated with cardiovascular events in subjects with refractory hypertension*. Med Clin (Barc), 2009. **133**(4): p. 127-31.
94. Wachtell K, Ibsen H, Olsen MH et al. *Albuminuria and Cardiovascular risk in Hypertensive patients with Left Ventricular Hypertrophy: The LIFE study*. Ann Intern Med, 2003. **139**(11): p. 901-6.
95. Lewington S, Clarke R, Qizibash N et al. *Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies*. The Lancet, 2002. **360**(December 14): p. 1903-13.
96. Saito I, Folsom AR, Brancati FL et al. *Nontraditional Risk Factors for Coronary Heart Disease Incidence among Persons with Diabetes: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study*. Ann Intern Med, 2000. **133**(2): p. 81-91.

97. Hassan A, Hunt BJ, O'Sullivan M et al. *Markers of endothelial dysfunction in lacunar infarction and ischemic leukoaraiosis*. Brain, 2003. **126**: p. 424-432.
98. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR et al. *Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study*. Circulation, 1997. **96**(12): p. 4219-25.
99. Pradhan AD, Rifai N, Ridker PM. *Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1, Soluble Vascular Adhesion Molecule-1, and the Development of Symptomatic Peripheral Arterial Disease in Men*. Circulation, 2002. **106**(7): p. 820-25.
100. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE et al. *C-reactive protein and others markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women*. N Engl J Med 2000. **342**(12): p. 836-42.
101. Madej A, Okopień B, Kowalski J et al. *Plasma concentrations of adhesion molecules and chemokines in patients with essential hypertension*. Pharmacological Reports, 2005. **57**(6): p. 878-881.
102. Buemi M, Allegra A, Aloisi C et al. *Cold Pressor Test Raises Serum Concentrations of ICAM-1, VCAM-1, and E-Selectin in Normotensive and Hypertensive Patients* Hypertension, 1997. **30**(4): p. 845-847.
103. Palomo I, Marin P, Alarcon M et al. *Patients with essential hypertension present higher levels of sE-selectin and sVCAM-1 than normotensive volunteers*. Clin Exp Hypertens, 2003. **25**(8): p. 517-23.
104. Miller MA, Kerry SM, Cook DG et al. *Cellular adhesion molecules and blood pressure: interaction with sex in a multi-ethnic population*. J Hypertens, 2004. **22**(4): p. 705-11.
105. Cottone S, Mulé G, Nardi E. *C-reactive protein and intercellular adhesion molecule-1 are stronger predictors of oxidant stress than blood pressure in established hypertension*. J Hypertens, 2007 Feb. **2**(25): p. 423-8.
106. Jager A, van Hinsbergh VW, Kostense PJ et al. *C-reactive protein and soluble vascular cell adhesion molecule-1 are associated with elevated urinary albumin excretion but do not explain its link with cardiovascular risk*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002. **22**(4): p. 593-598.
107. Yokoyama H, Jensen JS, Myrup B et al. *Raised serum sialic acid concentration precedes onset of microalbuminuria in IDDM*. Diabetes Care, 1996. **19**(5): p.435-440.
108. Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW et al. *Increased Urinary Albumin Excretion, Endothelial Dysfunction, and Chronic Low-Grade Inflammation in Type 2 Diabetes*. Diabetes 2002. **51**(4): p. 1157–1165.

109. DeSouza CA, Dengel DR, Rogers MA et al. *The fibrinolytic system is not impaired in older men with hypertension.* Hypertension, 1996. **27**(5): p. 1053-1058.
110. Poli KA, Tofler GH, Larson MG et al. *Association of Blood Pressure With Fibrinolytic Potential in the Framingham.* Circulation, 2000. **101**(3): p. 264-269.
111. Eliasson M, Jansson JH, Nilsson P et al. *Increased levels of tissue plasminogen activator antigen in essential hypertension. A population-based study in Sweden.* Journal of Hypertension, 1997. **15**(4): p. 349-56.
112. Juhan-Vague I, Thompson SG, Jespersen J. *Involvement of the haemostatic system in the insulin resistance syndrome.* Atherosclerosis and thrombosis, 1993. **13**(12): p. 1865-73.
113. Fattal PG, Schneider DJ, Sobel BE. *Post-transcriptional regulation of expression of plasminogen activator type I mRNA by insulin and insulin-like growth factor I.* The Journal of biological chemistry, 1992. **267** (18): p. 12412-12415.
114. Nordt TK, Klassen KJ, Schneider DJ et al. *Augmentation of synthesis of plasminogen activator inhibitor type I in arterial endothelial cells by glucose and its implications for local fibrinolysis.* Artherosclerosis and thrombosis, 1993. **13**(12): p. 1822-1828.
115. Trifiletti A, Scamardi R, Pizzoleo MA. *Increased Indexes of Thrombin Activation in Advanced Stages of Hypertension.* Haemostasis 2001. **31**(1): p. 49–54.
116. Furie KL, Rosenberg R, Thompson JL. *Thrombin generation in non-cardioembolic stroke subtypes: the Haemostatic System Activation Study.* Neurology, 2004 **63**(5): p. 768-9.
117. Wang TJ, Gona P, Larson MG. *Multiple Biomarkers and the Risk of Incident Hypertension.* Hypertension, 2007. **49**(3):p . 432-38.
118. Kuriyama S, Otsuna Y, Lida R et al. *Morning blood pressure predicts hypertensive organ damage in patients with renal diseases: effect of antihypertensive therapy in patients with diabetic nephropathy.* Inter Med, 2005. **44**(12): p. 1239-45.
119. Marchesi E, Martignoni A, Tinelli C et al. *Plasminogen activator inhibitor-1 and carotid intima-media thickening in patients with newly detected primary hypertension.* J Cardiovasc Risk., 1999. **6**(6): p. 363-9.
120. Diamantopoulos EJ, Andreadis EA, Vassilopoulos CV et al. *Increased plasma plasminogen activator inhibitor-1 levels: a possible marker of hypertensive target organ damage.* Clin Exp Hypertens, 2003 **25**(1): p. 1-9.

121. Ruilope LM, Salvetti A, Jamerson K et al. *Renal function and intensive lowering of blood pressure in hypertensive participants of the hypertension optimal treatment (HOT) Study.* J Am Soc Nephrol, 2001. **12**(2): p. 218-25.
122. Weir MR. *Microalbuminuria and cardiovascular disease.* Clin J Am Soc Nephrol, 2007. **2**(3): p. 581-590.
123. Pascual JM, Rosilla E, Gonzalez C et al. *Long-term impact of systolic blood pressure and glycaemia on the development of microalbuminuria in essential hypertension.* Hypertension, 2005. **45**(6): p. 1125-1130.
124. Kato T, Horio T, Tomiyama M et al. *Reverse white-coat effect as an independent risk for microalbuminuria in treated hypertensive patients.* Nephrol Dial Transplant, 2007. **22**(3): p. 911-916.
125. Gupta AK, Dahlof B, Dobson J et al. *Determinants of New-Onset Diabetes Among 19,257 Hypertensive Patients Randomized in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial–Blood Pressure Lowering Arm and the Relative Influence of Antihypertensive Medication.* Diabetes Care, 2008. **31**(5): p. 982–988.
126. Gress TW, Nieto FJ, Shahar E et al. *Hypertension and antihypertensive therapy as risk factors for type 2 Diabetes Mellitus.* N Engl J Med 2000. **342**(5): p. 905-12.
127. Barzilay JI, Davis BR, Cutter JA et al. *Fasting Glucose Levels and Incident Diabetes Mellitus in Older Nondiabetic Adults Randomized to Receive 3 Different Classes of Antihypertensive Treatment.* Arch Intern Med., 2006. **166**(20): p. 2191-2201.
128. Fong MC, Huang CC, Leu HB et al. *Glucose and Non-glucose Predictors of Future Onset of Type 2 Diabetes in Newly Diagnosed Essential Hypertensives.* J Chin Med Assoc, 2009. **72**(11): p. 564–572.
129. Elliott WJ, Meyer PM. *Incident diabetes in clinical trials of antihypertensive drugs: a network meta-analysis.* The Lancet, 2007. **369**(9557): p. 201-07.
130. Staessen JA, Richart T, Wang Z et al. *Implications of recently published trials of blood pressure-lowering drugs in hypertensive or high-risk patients.* Hypertension, 2010. **55**(4): p. 819-831.
131. Alderman MH, Cohen H, Madhan J. *Diabetes and Cardiovascular Events in Hypertensive Patients.* Hypertension 1999. **33**(5): p. 1130-1134.
132. Conen D, Tedrow UB, Koplan BA et al. *Influence of Systolic and Diastolic Blood Pressure on the Risk of Incident Atrial fibrillation in woman.* Circulation 2009. **119**(16): p. 2146-2152.
133. Mitchell GF, Vasen RS, Keyes MJ et al. *Pulse Pressure and Risk of New-Onset Atrial Fibrillation.* JAMA, 2007. **297**(7): p. 709-715.

134. Okin PM, Wachtell K, Devereux RB et al. *Regression of Electrocardiographic Left Ventricular Hypertrophy and Decreased Incidence of New-Onset Atrial Fibrillation in Patients With Hypertension*. JAMA, 2006. **296**(10): p. 1242-1248.
135. Haider AW, Larson MG, Franklin SS et al. *Systolic Blood Pressure, Diastolic Blood Pressure, and Pulse Pressure as Predictors of Risk for Congestive Heart Failure in the Framingham Heart Study*. Ann Intern Med, 2003;**138**(1): p. 10-16.
136. Okin PM, Devereux RB, Nieminen MS et al. *Electrocardiographic Strain Pattern and Prediction of New-Onset Congestive Heart Failure in Hypertensive Patients: The Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) Study*. Circulation 2006. **113**(1): p. 67-73.
137. Campbell DJ. *A review of Perindopril in the reduction of cardiovascular events*. Vascular Health and Risk Management, 2006. **2**(2): p. 117–124.
138. Ehrensperger E, Minuk J, Durcan L et al. *Predictive Value of Soluble Intercellular Adhesion Molecule-1 for Risk of Ischemic Events in Individuals with Cerebrovascular Disease*. Cerebrovasc Dis, 2005;**20**(6): p. 456-462.
139. Juhan-Vague I, Pyke SD, Alessi MC et al. *Fibrinolytic factors and the risk of myocardial infarction or sudden death in patients with angina pectoris*. Circulation 1996. **94** (9): p. 2057-63.
140. Fadl YY, Zareba W, Moss AJ et al. *History of Hypertension and Enhanced Thrombogenic Activity in Postinfarction Patients*. Hypertension, 2003. **41**(4): p. 943-949.
141. Jansson JH, Olofsson BO, Nilsson TK et al. *Predictive value of tissue plasminogen activator mass concentration on long-term mortality in patients with coronary artery disease*. Circulation 1993. **88**(5,Part I): p. 2030-2034.