

Artículo de revisión

# Evaluación no invasiva de la función endotelial en la práctica clínica

Antonio L. Arrebola-Moreno<sup>a,b</sup>, Martín Laclaustra<sup>c</sup> y Juan Carlos Kaski<sup>a,\*</sup>

<sup>a</sup> Cardiovascular Sciences Research Centre, St. George's, University of London, Londres, Reino Unido

<sup>b</sup> Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Virgen de las Nieves, Granada, España

<sup>c</sup> Departamento de Epidemiología, Aterotrombosis e Imagen, Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares (CNIC), Madrid, España

Historia del artículo:

On-line el 17 de noviembre de 2011

Palabras clave:

Función endotelial  
Vasodilatación mediada por flujo  
Velocidad de onda de pulso  
Pletismografía digital

Keywords:

Endothelial function  
Flow-mediated vasodilation  
Pulse wave velocity  
Finger plethysmography

## RESUMEN

En la lucha contra las enfermedades cardiovasculares, las estrategias preventivas están pasando a ser el principal centro de interés. Una de estas estrategias propone identificar a los individuos con riesgo elevado de sufrir enfermedad cardiovascular. La disfunción endotelial podría facilitar una mejor estratificación del riesgo y la puesta en práctica de estrategias preventivas. En esta revisión nos centramos en las técnicas no invasivas que se han introducido recientemente para evaluar la función endotelial: vasodilatación mediada por flujo medida con ecografía de la arteria humeral, análisis de la onda del pulso y pletismografía digital durante la hiperemia postisquémica. Describimos los principios básicos, los principales protocolos para la aplicación de estas técnicas y su valor clínico basado en la evidencia científica existente.

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Noninvasive Assessment of Endothelial Function in Clinical Practice

### ABSTRACT

In the fight against cardiovascular diseases, preventive strategies are becoming the focus of attention. One of these strategies proposes to identify individuals who are at a high risk of developing cardiovascular disease. Endothelial dysfunction could improve patient risk stratification and the implementation of preventive strategies. In this review we focus on noninvasive techniques that have recently become available to assess endothelial function: flow-mediated vasodilation as measured by ultrasound of the brachial artery, pulse wave analysis, and finger plethysmography during postischemic hyperemia. We describe the basic principles, the main protocols to perform these techniques, and their clinical value based on the scientific evidence.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

### Abreviaturas

CV: cardiovascular  
RM: resonancia magnética  
TAP: tono arterial periférico  
VMF: vasodilatación mediada por flujo  
VOP: velocidad de onda del pulso

## INTRODUCCIÓN

En la lucha contra las enfermedades cardiovasculares (CV), las estrategias preventivas están pasando a ser el principal centro de interés. Los amplios tratamientos farmacológicos e intervencionistas utilizados en los últimos años han tenido éxito en determinados campos, pero los costes asociados a esas estrategias

son elevados y los resultados en general son subóptimos. En consecuencia, la lucha por alcanzar reducciones útiles en la incidencia de los episodios CV en la población general continúa sin tregua<sup>1</sup>. Se han propuesto dos estrategias preventivas diferentes: a) hacer accesible la prevención farmacológica para el mayor número de personas posible, es decir, el empleo de la llamada *polypill*<sup>2</sup> o polipastilla, y b) identificar a los individuos con mayor riesgo de sufrir episodios CV en un plazo de 10 años y centrar los esfuerzos preventivos en esas personas. Actualmente, en general se prefiere la última, dada la limitación de recursos a que han de hacer frente los sistemas sanitarios de todo el mundo y la aparición no infrecuente de efectos secundarios asociados a la administración de productos farmacológicos. Lamentablemente, los métodos tradicionales actuales de predicción del riesgo basados en los factores de riesgo convencionales tienen limitaciones<sup>3</sup> y es necesario identificar algoritmos de estratificación del riesgo más efectivos, que deben tener en cuenta la fisiopatología de la enfermedad, han de tener una relación coste-efectividad favorable y deben ser fáciles de aplicar en la práctica clínica, a la vez que deben aportar información que vaya más allá de la proporcionada por los factores de riesgo y las puntuaciones de riesgo convencionales. En los últimos años se han realizado avances a este respecto,

\* Autor para correspondencia: Cardiovascular Sciences Research Centre, St. George's, University of London, Cranmer Terrace, London SW17 0RE, Reino Unido.  
Correo electrónico: [jkaski@sgul.ac.uk](mailto:jkaski@sgul.ac.uk) (J.C. Kaski).

con la introducción de técnicas ecográficas para la determinación del grosor de la íntima-media y de la composición de la placa de ateroma en la carótida; la tomografía computarizada (TC) para la detección y cuantificación de la calcificación de las arterias coronarias, la determinación con Doppler del índice de presión tobillo-brazo y la determinación de la velocidad de onda del pulso (VOP) en la aorta<sup>4</sup>, entre otras. Se ha propuesto también el empleo de la disfunción endotelial como indicador del riesgo CV. Este artículo se centra en las diferentes técnicas existentes para la evaluación de la función endotelial en la práctica clínica.

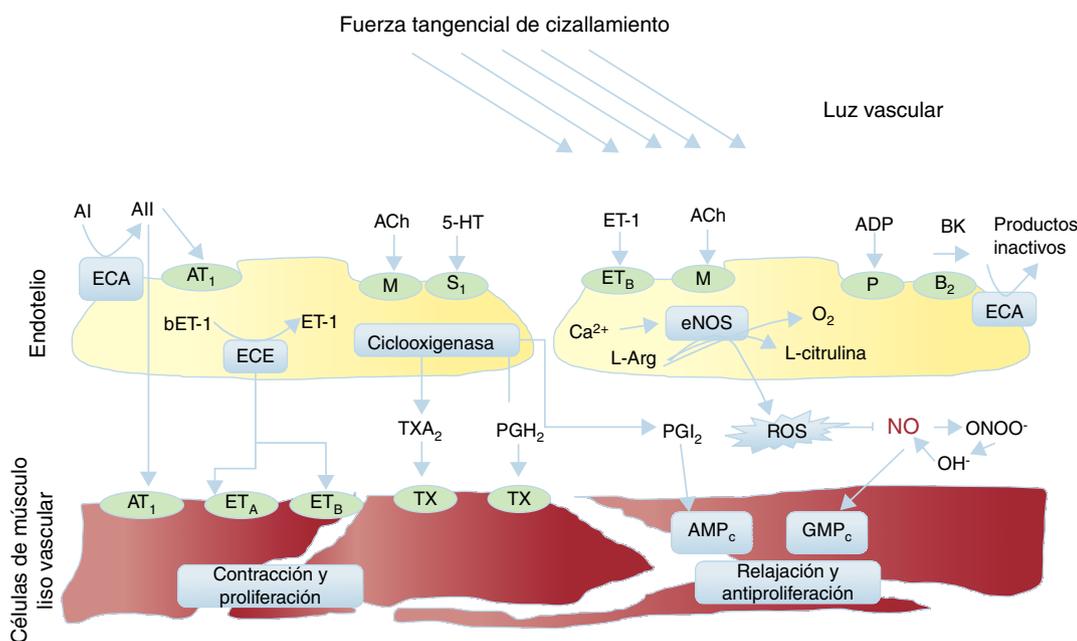
## DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

El término disfunción endotelial se utiliza ampliamente para describir cualquier forma de actividad anormal del endotelio. Lo más frecuente es que se caracterice la disfunción endotelial según el deterioro de la biodisponibilidad de óxido nítrico (NO) a causa de la reducción de la producción de NO por la NO-sintasa endotelial (eNOS), el aumento de la degradación del NO por las especies moleculares de oxígeno reactivo o ambas cosas. En condiciones normales, el NO se difunde a las células de músculo liso vascular y activa la guanilato ciclasa, lo que da lugar a una vasodilatación mediada por guanosina monofosfato cíclico. La fuerza de cizallamiento tangencial es un factor activador clave de la eNOS en circunstancias fisiológicas, y facilita la adaptación de la perfusión de los órganos a los cambios del gasto cardiaco. Otras moléculas de señalización, como la bradicinina, la adenosina, el factor de crecimiento endotelial vascular (que se expresa en respuesta a la hipoxia) y la serotonina (liberada

durante la agregación plaquetaria) pueden activar también la eNOS (fig. 1)<sup>5</sup>.

En las fases iniciales del proceso aterosclerótico, la función endotelial puede mantenerse en parte por una regulación de aumento compensatoria de la prostaciclina o el factor o los factores hiperpolarizantes derivados del endotelio (EDHF). La prostaciclina, un producto del sistema de la ciclooxigenasa, es otro vasodilatador derivado del endotelio que actúa de manera independiente del NO, pero desempeña un papel limitado en el mantenimiento del tono vascular. El endotelio interviene también en la hiperpolarización de las células de músculo liso vascular a través de una vía independiente del NO que aumenta la conductancia para el potasio y facilita la posterior propagación de la despolarización de las células de músculo liso vascular para mantener el tono vasodilatador. Sólo se conoce una parte de los EDHF que participan en este proceso (como los factores derivados del citocromo y posiblemente el péptido natriurético de tipo C) y pueden diferir entre los distintos lechos vasculares<sup>6</sup>. La disfunción endotelial se ha documentado en casi todos los trastornos asociados a la aterosclerosis y la enfermedad CV<sup>7</sup> y se ha relacionado también con la presencia de los factores de riesgo CV convencionales, como hipertensión, dislipemia, diabetes mellitus, edad y obesidad<sup>5,8-13</sup>. También se ha descrito en pacientes con enfermedades inflamatorias e infecciosas<sup>14,15</sup>.

Como consecuencia de la disfunción endotelial, se produce toda una gama de episodios moleculares proateroscleróticos, como el aumento de la permeabilidad a los lípidos y el fomento de entornos oxidativos e inflamatorios en el interior de las placas ateromatosas, que favorecen la rotura de la placa y los episodios protrombóticos, como se observa en el síndrome coronario agudo. Así pues, la función endotelial constituye un índice integrado tanto de la carga



**Figura 1.** El endotelio. Estructura y función. El endotelio es una fina capa de células que recubre la superficie interna de los vasos sanguíneos<sup>5</sup>. Se comporta como una glándula autocrina, paracrina y endocrina. Las células endoteliales producen varios mediadores con efectos vasorrelajantes, antiproliferativos, antitrombóticos y antiadherentes, como el óxido nítrico, la prostaciclina, el factor hiperpolarizador de origen endotelial y el péptido natriurético tipo C. Las acciones de estas moléculas son compensadas por la liberación de sustancias con efectos contrarios, como la endotelina 1, el tromboxano A<sub>2</sub>, la prostaglandina H<sub>2</sub> y el anión superóxido. El deterioro de la dilatación dependiente del endotelio hace que se pase de una respuesta vasodilatadora neta frente a diversos estímulos a una respuesta vasoconstrictora que puede afectar al flujo sanguíneo<sup>6</sup>. 5-HT: serotonina; AI: angiotensina I; AII: angiotensina II; ACh: acetilcolina; ADP: adenosina difosfato; AMP<sub>c</sub>: adenosina monofosfato cíclico; AT<sub>1</sub>: receptor de la angiotensina 1; B<sub>2</sub>: receptor de bradicinina B2; BK: bradicinina; ECA: enzima de conversión de la angiotensina; ECE: enzima de conversión de la endotelina; eNOS: óxido nítrico sintasa endotelial; ET-1: endotelina 1; ET<sub>A</sub>: receptores de endotelina A; ET<sub>B</sub>: receptores de endotelina B; GMP<sub>c</sub>: guanosina monofosfato cíclico; L-Arg: L-arginina; M: receptor muscarínico; NO: óxido nítrico; OH: radical hidroxilo; ONOO: óxido nítrico peroxinitrito; P: receptor de purina; PGH<sub>2</sub>: prostaglandina H<sub>2</sub>; PGI<sub>2</sub>: prostaciclina; ROS: especies moleculares de oxígeno reactivo; S<sub>1</sub>: receptor serotoninérgico; TX: receptor de tromboxano; TXA<sub>2</sub>: tromboxano. Modificado con permiso de Flammer et al<sup>7</sup>.

total de riesgo CV como de la suma de factores de protección vascular en un determinado individuo. Dado su papel en el proceso aterosclerótico, no es de extrañar que múltiples estudios demuestren un valor pronóstico de la disfunción endotelial, tanto la medida en las arterias coronarias como la medida en la circulación<sup>16</sup>.

## EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

La disfunción endotelial coronaria suele evaluarse por métodos invasivos, como la infusión de acetilcolina (ACh) en la arteria coronaria, en la que se ha demostrado que produce una vasoconstricción paradójica de las arterias afectadas por el ateroma<sup>17</sup>. La ACh fomenta la liberación de NO en los vasos sanguíneos que disponen de un endotelio indemne, lo que conduce a vasodilatación. Sin embargo, los vasos ateroscleróticos con un deterioro de la función endotelial responden con vasoconstricción como consecuencia de un efecto vasoconstrictor directo de la ACh en el músculo liso vascular (efecto muscarínico) en ausencia de liberación de NO. La nitroglicerina se emplea para evaluar la dilatación independiente del endotelio. Los investigadores han utilizado también agonistas endoteliales como sustancia P, adenosina y bradicinina; el uso de estos productos ha aportado una importante perspectiva respecto a los efectos vasculares de los factores de riesgo. Estos métodos han permitido también la caracterización de los efectos vasculares de agentes farmacológicos como los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina y las estatinas<sup>18</sup>. Sin embargo, la utilidad de este método se ve limitada por su naturaleza invasiva y, por lo tanto, en los últimos años se han desarrollado nuevas técnicas para evaluar la disfunción endotelial de forma no invasiva. No obstante, dado que la disfunción endotelial es un proceso sistémico que afecta simultáneamente a diferentes territorios vasculares<sup>19</sup>, se acepta que los métodos no invasivos de evaluación de la función endotelial en los vasos periféricos, aunque sea de forma indirecta, son representativos de la función vascular coronaria. La mayor parte de las técnicas actualmente disponibles utilizan la vasomotilidad dependiente del endotelio como parámetro de valoración clínica para el estudio de la función endotelial. Las pruebas se basan en una estimulación farmacológica o fisiológica de la liberación endotelial de NO y otros compuestos vasoactivos, y a menudo en la comparación de las respuestas vasculares a sustancias dilatadoras independientes del endotelio como la nitroglicerina. La determinación de la biodisponibilidad local de NO no sólo refleja su influencia en el tono vascular, sino también otras funciones importantes de esta molécula, como son la tromborregulación, la adhesión celular y la proliferación<sup>5</sup>. La mayoría de estas técnicas muestran buena correlación con la evaluación de la función endotelial coronaria<sup>20</sup>. En la actualidad, las principales técnicas no invasivas utilizadas para evaluar las funciones endoteliales son la vasodilatación mediada por flujo (VMF) medida mediante ecografía de la arteria humeral, el análisis de la onda del pulso y la pletismografía digital durante la hiperemia postisquémica. Recientemente se han revisado otros métodos invasivos y no invasivos de medición de la función microvascular coronaria, como los de resonancia magnética (RM), tomografía de emisión de positrones, TC, TC por emisión monofotónica, ecocardiografía Doppler, guía de flujo Doppler, guía coronaria con sensor de temperatura y presión o el *thrombolysis in myocardial infarction frame count* (recuento de imágenes por segundo) y puntuación del grado de opacificación (*blush*) miocárdica<sup>19</sup>. Se ha propuesto también un enfoque completamente diferente, que se basa en la determinación de la concentración plasmática de productos liberados por el endotelio, que puede reflejar (en cierta medida) la activación o disfunción general del endotelio. Las fracciones solubles circulantes de la

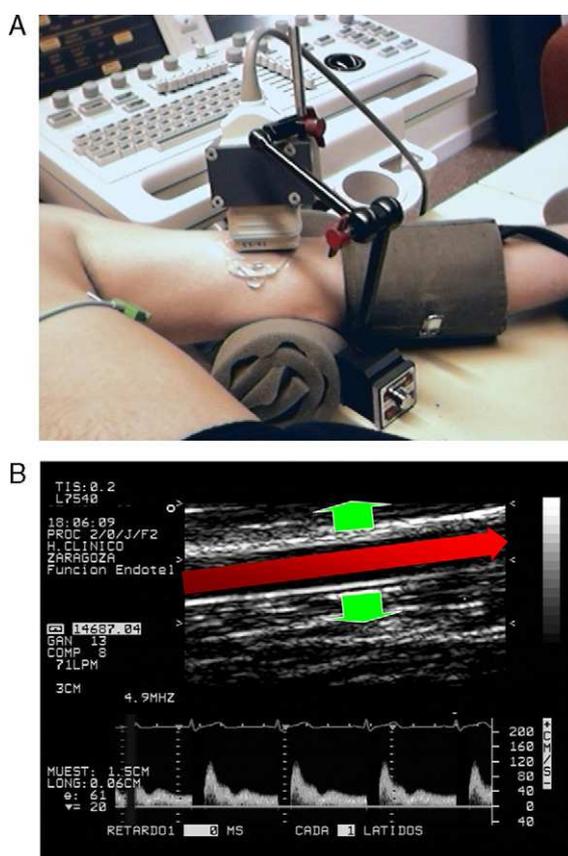
molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), la molécula de adhesión celular vascular-1 y el factor de von Willebrand pueden considerarse marcadores de la función endotelial<sup>20</sup>. Las concentraciones de estos péptidos aumentan cuando el endotelio se activa o se daña, y tienen alto valor predictivo respecto al riesgo y la presencia y la gravedad de la enfermedad vascular<sup>21-23</sup>. La evaluación de los marcadores bioquímicos de la disfunción endotelial está fuera del ámbito de esta revisión.

## EVALUACIÓN DE LA VASODILATACIÓN MEDIADA POR FLUJO EN LA ARTERIA HUMERAL

En la actualidad, la VMF es el método más comúnmente utilizado para medir la disfunción endotelial, principalmente por su sensibilidad y su carácter no invasivo. Celemajer et al<sup>24</sup> la utilizaron por primera vez tras un estudio fisiológico de Anderson y Mark<sup>25</sup>. Se basa en la liberación endotelial de NO y otros factores relajantes derivados del endotelio, en respuesta a un aumento de la fuerza de cizallamiento tangencial. En esta prueba, esto se produce cuando el flujo sanguíneo del antebrazo aumenta durante la hiperemia reactiva que sigue a un breve periodo de isquemia transitoria en los territorios distales. La isquemia se produce mediante un manguito neumático, colocado en el antebrazo, distalmente a la zona de visualización mediante ecografía, e hinchado a una presión suprasistólica durante 5 min (fig. 2). Al deshinchar el manguito, el aumento del flujo da lugar a una fuerza tangencial, que activa la eNOS para que libere NO a través de la vía de la L-arginina. El NO se difunde a las células de músculo liso y causa su relajación, lo que conduce a vasodilatación. Finalmente, se mide la VMF como porcentaje de cambio del diámetro de la arteria humeral (fig. 3)<sup>26</sup> entre la situación basal y el aumento máximo del diámetro (fig. 4)<sup>27,28</sup>.

Pese a ser la técnica utilizada con mayor frecuencia, un examen más detallado de la literatura pone de relieve que hay amplias variaciones en la VMF media cuando se comparan diferentes estudios en poblaciones similares<sup>29</sup>. Actualmente, la falta de consenso científico respecto a un protocolo estandarizado para medir la VMF impide realizar comparaciones exactas de los datos de diferentes centros. Se han realizado intentos de elaborar una guía<sup>30,31</sup>, pero no se ha alcanzado una estandarización completa. Hay cinco elementos críticos de la metodología de la VMF que es necesario estandarizar<sup>28</sup>:

- Posición de la sonda en relación con el manguito: si el manguito se coloca proximalmente a la sonda, no está claro qué aspecto de la función endotelial se está midiendo. La medición de la VMF dependiente del NO se ve afectada por el factor de confusión derivado de la presencia de una vasodilatación isquémica adicional (independiente del NO)<sup>32</sup>. Por consiguiente, si el objetivo del estudio es determinar la biodisponibilidad de NO, el manguito debe colocarse distalmente a la sonda (fig. 2).
- Estímulo de la fuerza tangencial (tiempo de oclusión con el manguito): hay consenso general respecto a que 5 min son el tiempo óptimo para provocar una buena respuesta hiperémica reactiva y la consiguiente dilatación, puesto que un periodo más largo no garantiza un proceso puro a través de la acción del NO<sup>33</sup>.
- Medición de la imagen (estereotaxis y automatización): es obligado utilizar un aparato estereotáctico para obtener imágenes estáticas de alta calidad (fig. 2). Para obtener imágenes más estables, puede usarse una base ajustable con micrómetro para recolocar la sonda y seguir la arteria; otra posibilidad es utilizar un molde anatómico de antebrazo que ayuda a impedir la pronosupinación del antebrazo, que es la causa más importante de desviación de la imagen. Cada imagen debe medirse al final de la diástole, y debe registrarse la dilatación máxima y no la



**Figura 2.** A: disposición para determinar la vasodilatación mediada por flujo. Obsérvese la posición de la sonda en relación con el manguito y el aparato estereotáctico. B: imagen de ecografía de la arteria humeral utilizada para medir tanto los cambios del diámetro como la velocidad del flujo.

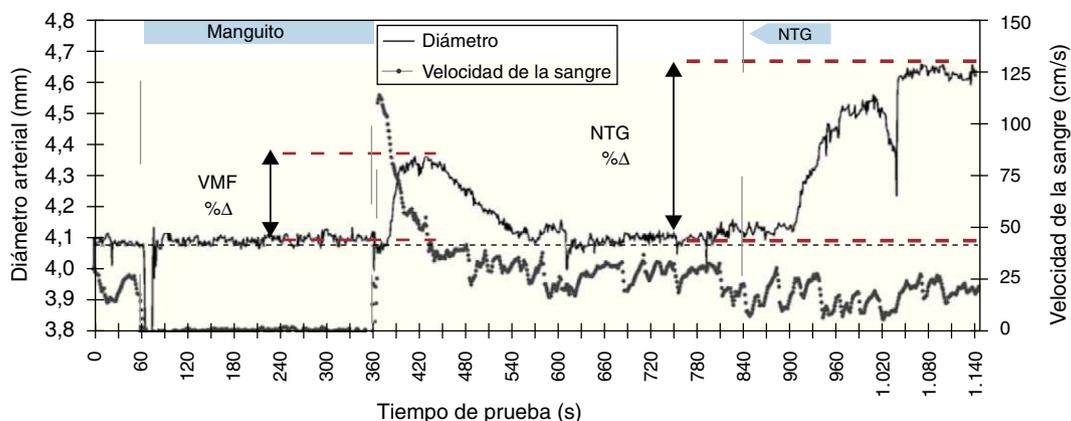
dilatación tras cierto tiempo después de liberado el manguito; se ha demostrado que al realizar la medición tras un periodo fijo de, por ejemplo, 60 s, no se detecta la dilatación máxima en aproximadamente el 70% de los individuos<sup>34</sup>. De hecho, el momento de dilatación máxima forma parte de las diferencias interindividuales en la respuesta endotelial<sup>26</sup>, y por el momento no se sabe si es útil o no determinar el tiempo transcurrido hasta alcanzar el diámetro máximo. Para seleccionar la dilatación máxima, es deseable realizar una medición automática en cada ciclo cardiaco, lo cual aporta la ventaja adicional de evitar la variabilidad inherente a las determinaciones manuales<sup>35,36</sup>.

- Control de los factores ambientales: esto es importante para la consistencia longitudinal de las determinaciones de la VMF. Los factores que se sabe que afectan a las determinaciones de la VMF son la temperatura ambiental, la hora del día, la ingestión de alimentos grasos y de cafeína, la presencia simultánea de inflamación o infección y la fase del ciclo menstrual<sup>28</sup>. Aunque se ha demostrado que estos factores influyen en la VMF y las guías actuales han recomendado claramente determinadas condiciones, los datos recientes ponen de manifiesto que esta contribución a la variabilidad de la VMF es relativamente baja y no debe considerarse un factor limitante cuando no es posible alcanzar las condiciones ideales<sup>37</sup>.
- Por último, la cuantificación del estímulo hiperémico reactivo se ha estudiado muy poco y la variación en la isquemia alcanzada puede explicar una notable variación de la VMF<sup>26</sup>. Hay varias variables que afectan a la transducción de la fuerza tangencial en una dilatación del conducto arterial. Se trata de variables metodológicas —como, por ejemplo, posición del manguito y

duración de la fuerza tangencial y de la isquemia— y fisiológicas —como rigidez arterial, patrón de flujo y viscosidad de la sangre—, que no se han tenido en cuenta o no se han descrito plenamente. La fuerza tangencial puede calcularse registrando la velocidad Doppler tras la liberación del manguito. Para evitar la variación en la fuerza tangencial, se ha propuesto una normalización con una proporción (VMF/fuerza tangencial)<sup>31</sup>. No obstante, la utilidad de esta normalización es objeto de controversia y hoy no es posible recomendar un método para introducir una corrección respecto a las diferencias en la fuerza tangencial<sup>31</sup>.

Los estudios de VMF presentados en la literatura difieren en su adherencia a las cuestiones metodológicas clave ya señaladas. Para que sean exactas y reproducibles, las determinaciones de la VMF, como las de muchas otras exploraciones de imagen, exigen una formación cuidadosa del operador, una técnica estandarizada y protocolos de análisis bien definidos. Recientemente, se ha demostrado en estudios de seguimiento y en test de intervención que la VMF puede constituir una variable sustitutiva útil. Se han publicado curvas de potencia para facilitar el diseño de test de grupos cruzados y de grupos paralelos y existe también un nomograma para los valores de VMF que puede usarse como referencia para vasos de diversos tamaños<sup>27</sup>.

Se está investigando sobre la aplicación clínica de las técnicas de VMF y se están probando nuevos enfoques y mediciones, como la importancia de la reducción del diámetro de la arteria humeral durante el hinchado del manguito, del que se ha señalado que se correlaciona con la presencia de factores de riesgo<sup>38</sup>.



**Figura 3.** Curvas de diámetro y velocidad de la sangre en función del tiempo en una prueba estándar de vasodilatación mediada por flujo. La línea negra continua indica el diámetro. La línea gris punteada indica la velocidad de la sangre. La línea horizontal punteada indica el diámetro basal de referencia. El periodo de isquemia distal se indica con la palabra «Manguito». «NTG» indica el instante de la administración de nitroglicerina. NTG: nitroglicerina; VMF: vasodilatación mediada por flujo. Modificado con permiso de Laclaustra et al<sup>26</sup>.

### Valor clínico de la determinación de la vasodilatación mediada por flujo

En condiciones estandarizadas, la VMF de la arteria humeral es una medida útil de la función endotelial dependiente de NO. En individuos aparentemente sanos, puede utilizarse como marcador de la exposición a factores de riesgo cardiacos y sus efectos funcionales<sup>39-41</sup>. Durante un periodo de seguimiento de 6 años, se ha observado que la VMF se correlaciona con la progresión de la enfermedad preclínica en la arteria carótida y muestra una relación más estrecha con la progresión que los factores de riesgo convencionales<sup>42</sup>. En prevención secundaria, aporta información pronóstica a largo plazo tanto en pacientes con enfermedad vascular periférica como en los que presentan un síndrome coronario agudo, así como información pronóstica a corto plazo en los pacientes a los que se practican intervenciones de cirugía vascular<sup>43-45</sup>. Hay estudios que han obtenido resultados prometedores, pero la aplicación clínica de la VMF se ve limitada actualmente por la falta de protocolos estandarizados y valores de referencia. Así pues, las pruebas de VMF continúan utilizándose sólo en el campo de la investigación, en la que constituyen un instrumento valioso e importante, sobre todo para el estudio de

poblaciones más que de individuos. El posible valor aditivo de la VMF con ecografía de la arteria humeral cuando se añade a los métodos clínicos tradicionales establecidos está pendiente de demostrar, y actualmente se están realizando estudios para abordar esta cuestión<sup>7</sup>.

### VELOCIDAD DE ONDA DEL PULSO Y ANÁLISIS DE LA ONDA DEL PULSO

La VOP fue descrita por primera vez por la ecuación de Moens-Korteweg obtenida en los años veinte del pasado siglo, que relacionaba la VOP con la distensibilidad del vaso sanguíneo,  $c_0 = \sqrt{Eh/2Rp}$ , donde  $c_0$  es la velocidad de onda,  $E$  es el módulo de Young en la dirección circunferencial,  $h$  es el grosor de la pared,  $R$  es el radio del vaso y  $\rho$  es la densidad del líquido. Los valores normales varían de un vaso a otro y se describen en la tabla 1<sup>46</sup>. La VOP aórtica suele medirse entre la arteria carótida y la femoral mediante la detección sincrónica de la llegada de la onda a ambas localizaciones y determinando la distancia entre ellas. Este método proporciona el valor de la velocidad media.

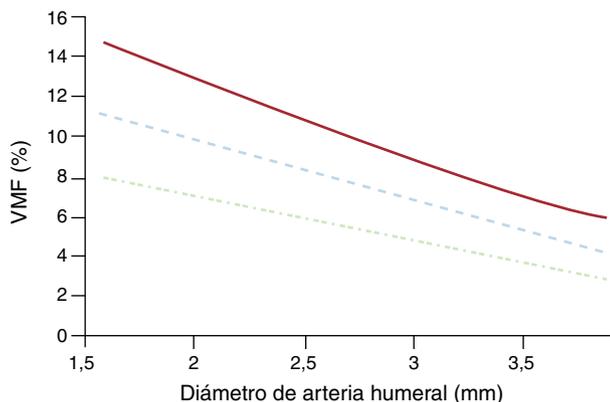
Otro parámetro de interés que está relacionado con la VOP es la forma de la onda de presión. La forma de la onda de presión en cualquier arteria es el resultado de la suma de la transmisión anterógrada del impulso de presión cardiaco y un reflejo retrógrado generado por el sistema vascular periférico en la interfase entre las arterias grandes y los vasos de resistencia (arterias y arteriolas). La onda de presión se desplaza a una velocidad tan alta que se refleja hacia atrás, en dirección a las arterias centrales, durante el mismo ciclo de eyección y se solapa con parte de la onda anterógrada. En consecuencia, la presión registrada en cualquier lugar del sistema arterial es la suma de la onda anterógrada y la onda reflejada y depende de tres factores:

**Tabla 1**

Valores normales de velocidad de onda del pulso en un adulto estándar de mediana edad

Localización	Valores normales (m/s)
Aorta, aorta ascendente	4
Aorta abdominal y carótidas	5
Arteria humeral	7
Arterias ilíacas	8

Reproducido con permiso de Zambanini et al<sup>46</sup>.



**Figura 4.** Nomograma para determinar la vasodilatación mediada por flujo según el diámetro basal del vaso sanguíneo. Hay asociación lineal negativa entre el diámetro basal y la vasodilatación mediada por flujo. Para un diámetro basal específico, puede estimarse la vasodilatación mediada por flujo. La línea negra indica el percentil 75, la línea a trazos azules indica el percentil 50 y la línea a trazos rectangulares corresponde al percentil 25 de la población. VMF: vasodilatación mediada por flujo. Modificado con permiso de Charakida et al<sup>27</sup>.

la amplitud y la duración de la eyección ventricular, la amplitud de la onda reflejada, y la VOP<sup>47</sup>.

Con el empleo de la tonometría de aplanamiento o la fotopletismografía, pueden obtenerse los datos de presión respecto al tiempo en diferentes arterias, como las radiales, las femorales o las carótidas. Pueden realizarse varias determinaciones mediante el análisis de la forma de onda periférica<sup>48</sup>. Con la aplicación de una función de transferencia integral validada, puede obtenerse la forma de onda aórtica central<sup>49</sup>. Concretamente, se puede inferir las presiones centrales y calcular el índice de potenciación (*augmentation index*) como indicador de la rigidez arterial. Utilizando el electrocardiograma como referencia temporal, se puede comparar las lecturas de arterias de diferentes localizaciones con la VOP medida.

Recientemente se ha evaluado la rigidez arterial mediante RM. A diferencia de la VOP, que es una medida media de la rigidez arterial general, la RM permite detectar cambios más sutiles en la rigidez regional. En la RM, es posible la visualización tridimensional completa del vaso, lo cual permite situar un plano de medición de la imagen perpendicular al vaso en una localización reproducible. Además, se puede obtener datos de velocidad de manera simultánea en dos localizaciones aórticas y medir con precisión la distancia entre ellas<sup>50</sup>.

La tonometría de aplanamiento de la arteria radial, a diferencia de la tonometría de la arteria carótida o femoral, es más fácil de utilizar en el ámbito clínico y causa menos molestias al paciente<sup>51</sup>. La tonometría de la arteria radial aporta una evaluación no invasiva, reproducible y exacta de la forma de onda de presión del pulso central. La tonometría de aplanamiento de la arteria radial se realiza colocando un tonómetro manual (sensor de presión con calibrador de tensión) sobre la arteria radial y aplicando una leve presión para «aplanar» parcialmente la arteria (fig. 5). La presión de la arteria radial se transmite entonces del vaso al sensor (calibrador de tensión) y se registra digitalmente (fig. 6)<sup>47</sup>.

Recientemente se ha validado un nuevo método de análisis de la onda del pulso que utiliza datos oscilométricos obtenidos del brazo con un manguito hinchado a una presión suprasistólica y ha mostrado intensa correlación (correlación de Pearson = 0,91;  $p < 0,001$ ) con las determinaciones obtenidas durante el cateterismo cardíaco<sup>52</sup>. Esta nueva técnica tiene la ventaja de un alto nivel de automatización, que proporciona mejor reproducibilidad<sup>53</sup>.

Sin embargo, según cuál sea el método utilizado, los resultados en cuanto a la reproducibilidad de la VOP continúan siendo controvertidos<sup>54-56</sup>. En general, podríamos decir que, cuando se registra la VOP con métodos como el Doppler o la tonometría, ello requiere más tiempo y sobre todo la reproducibilidad depende de la pericia del operador, mientras que, empleando las nuevas técnicas oscilométricas (fig. 7), el método resulta mucho más sencillo y reproducible<sup>57</sup>. No obstante, es necesaria la adherencia estricta a unos procesos estandarizados para asegurar que se obtienen datos clínicamente sólidos. La presión arterial debe medirse según lo establecido en las guías y el séptimo informe del *Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure*<sup>58</sup>. Dado que los suplementos vasoactivos, los descongestivos, la cafeína, la nicotina o el ejercicio pueden influir en la reactividad vascular, la frecuencia cardíaca y la presión arterial, es preciso evitarlos antes de determinar la presión arterial, con objeto de no invalidar los resultados.

### Valor clínico de la velocidad de onda del pulso

Aunque no es el único factor contribuyente, la función endotelial desempeña un papel importante en la rigidez arterial. Todos los factores que reducen la distensibilidad del vaso sanguíneo (es decir, aumentan la «rigidez» de la pared) conducen

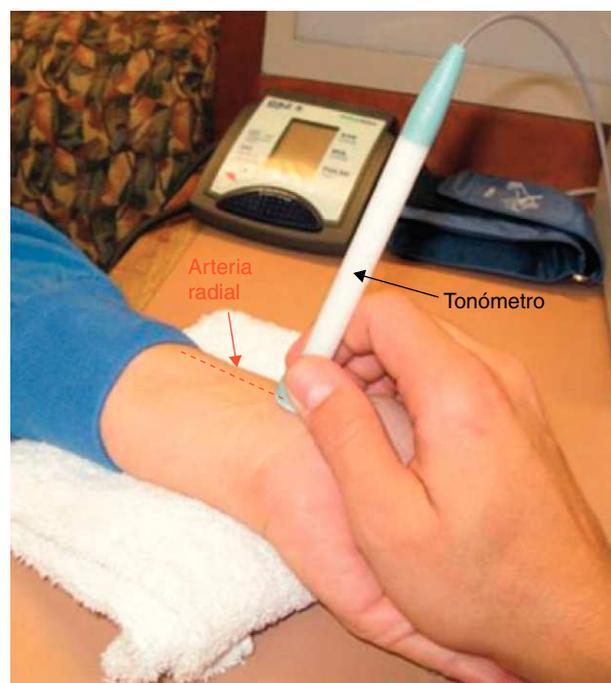


Figura 5. La tonometría de aplanamiento se realiza colocando un sensor de presión sobre la arteria radial. Modificado con permiso de Nelson et al<sup>47</sup>.

a una VOP más alta. Los factores de riesgo ateroscleróticos causan un remodelado vascular que produce «rigidez» arterial en la aorta y otras grandes arterias<sup>59</sup>.

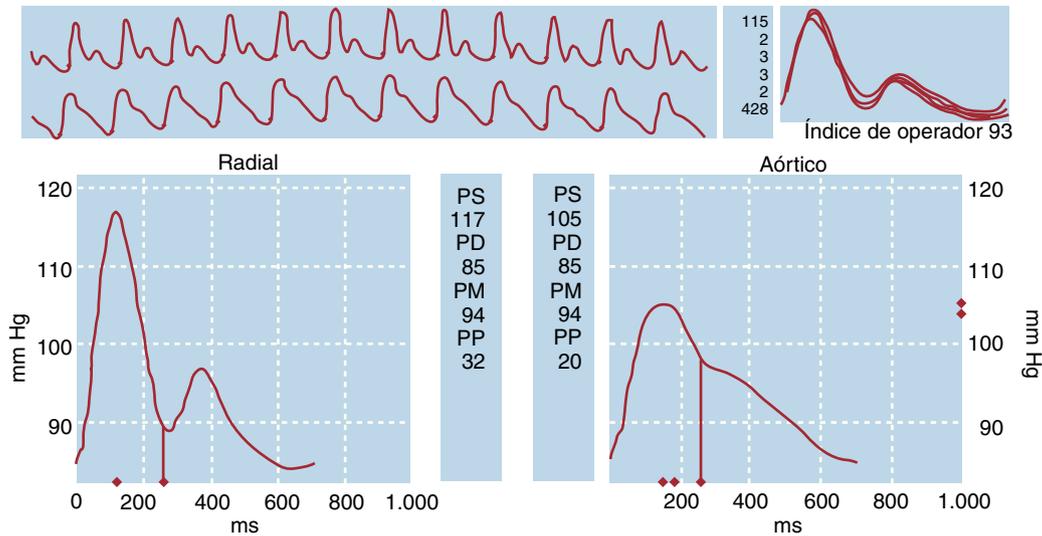
En diferentes estudios, la VOP se correlaciona con el número de factores de riesgo CV, el nivel de forma física, los episodios CV y la mortalidad en poblaciones de pacientes con enfermedad renal terminal, diabetes mellitus o síndrome metabólico y adultos ancianos sanos<sup>60-63</sup>, así como en los pacientes que tienen un riesgo basal más alto, según se ha publicado recientemente en un amplio metaanálisis<sup>64</sup>.

Sin embargo, dada la falta de estudios más amplios que demuestren su reproducibilidad, el uso de la VOP, como el de la VMF, está limitado al ámbito de la investigación y se aplica principalmente a poblaciones de estudio más que a individuos.

### PLETISMOGRAFÍA DIGITAL

En 1937, Alrick Hertzman<sup>65</sup> desarrolló una «pletismografía fotoeléctrica», que describió como un dispositivo que «aprovecha el hecho de que la absorción de la luz por un tejido transluminado varía en función de su contenido de sangre». Esto es consecuencia de la ley de Lambert-Beer, que relaciona la absorción de la luz con la densidad óptica. No está claro a qué corresponde realmente el pulso fotopletismográfico en diferentes localizaciones corporales, pero el componente continuo se atribuye a la absorción de la luz por el tejido y el volumen de sangre fijo, y el componente pulsátil se atribuye a los cambios del volumen sanguíneo durante el ciclo cardíaco. La fotopletismografía, una vez calibrada con una determinación de la presión arterial, puede utilizarse en el dedo de la mano para obtener la monitorización continua de la presión arterial dactilar (fig. 8)<sup>66</sup>.

Existe también una tecnología diferente para medir el mismo fenómeno. Recientemente se ha introducido un manguito de pletismografía neumática para el dedo de la mano, y ello proporciona un nuevo método para la evaluación del volumen de flujo sanguíneo «de latido a latido» mediante el registro de los



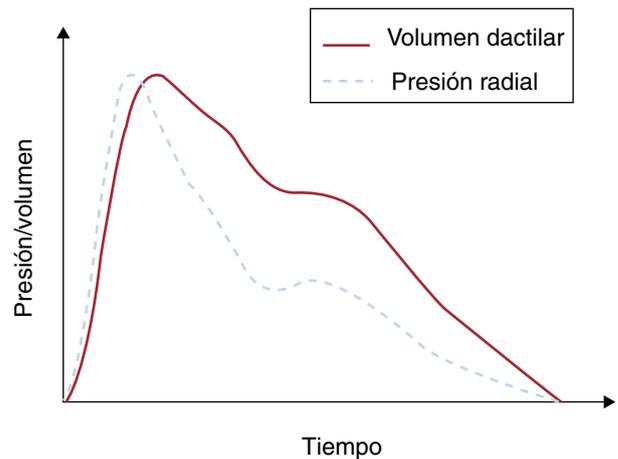
**Figura 6.** El panel alargado superior muestra la onda de presión radial por encima de la onda de presión central calculada. El panel inferior izquierdo muestra una ampliación de la onda arterial radial. La presión sistólica/diastólica es de 117/85 mmHg. El panel inferior derecho muestra una ampliación de la onda de presión central calculada. La presión central es de 105/85 mmHg. Modificado con permiso de Nelson et al<sup>47</sup>. ms: milisegundos.

cambios del volumen pulsátil arterial en el dedo (EndoPAT<sup>®</sup>) (fig. 9). Con estos instrumentos, los cambios del volumen pulsátil sanguíneo se utilizan como indicador sustitutivo del flujo sanguíneo basal. Dado que el flujo periférico depende del tono de los vasos sanguíneos pequeños, estos métodos se denominan determinaciones del tono arterial periférico (TAP).

Para valorar la función endotelial, se compara el flujo sanguíneo postisquémico (hiperémico) con el flujo sanguíneo basal. Se efectúa una monitorización en un dedo de cada mano y se coloca un manguito de presión en la parte superior de uno de los brazos para producir una isquemia transitoria, al tiempo que se utiliza el otro brazo como control. Tras la medición del flujo basal, se hincha el manguito de presión arterial por encima de la presión sistólica durante 5 min para inducir hiperemia reactiva postisquémica. El índice calculado (fig. 10) entre el flujo del brazo con hiperemia reactiva y el brazo de control es una medida de la función endotelial. Se puede medir cambios de flujo similares tras la administración de nitroglicerina para valorar la respuesta no dependiente del endotelio<sup>7</sup>.



**Figura 7.** Dispositivo oscilométrico para determinar la velocidad de onda del pulso.



**Figura 8.** Un fotopleletismógrafo moderno que incorpora un diodo emisor de luz y un sensor en una pinza para el dedo. Se muestra una onda típica (línea continua), junto con una onda de presión radial (obtenida con un tonómetro) en el mismo individuo. Modificado con permiso de Millaseau et al<sup>66</sup>.



Figura 9. Dispositivo EndoPAT®.

### Valor clínico del EndoPAT®

Las determinaciones del TAP en pacientes con dolor torácico<sup>67</sup> y enfermedad coronaria<sup>68</sup> parecen estar bien correlacionadas con la evaluación de la función endotelial realizada mediante infusión intracoronaria de acetilcolina durante la angiografía<sup>20</sup> o con VMF basada en ecografía de la arteria humeral, aunque la intensidad de la correlación varía en los diferentes estudios.

La principal ventaja del EndoPAT® respecto a las técnicas antes mencionadas es su elevada reproducibilidad, principalmente por la sencillez del método en sí, que hace que haya muy poca variación entre distintos operadores. Un estudio llevado a cabo para comparar la reproducibilidad de estas técnicas ha indicado que el EndoPAT® proporciona resultados más reproducibles que los de la evaluación de la VMF con ecografía de la arteria humeral, aunque la realice un ecografista adecuadamente capacitado para la ecografía de arteria humeral<sup>69</sup>. Sin embargo, el aumento del flujo y el posterior aumento del volumen de pulso del dedo durante la hiperemia reactiva es una respuesta compleja a la isquemia y sólo en parte depende del NO<sup>70</sup>. A este respecto, otro estudio observó

que, mientras que el índice de hiperemia reactiva es relativamente estable durante 2 h, aun cuando se mida a intervalos de 30 min, la reproducibilidad de un día a otro es baja. Esto podría deberse a la variabilidad diaria de las respuestas endoteliales, pero también a otros factores que pueden haber afectado a las respuestas vasculares periféricas a la isquemia. Nuevamente, parece ser imperioso atenerse a un protocolo estricto al realizar estas evaluaciones<sup>71</sup>.

Al igual que otras técnicas utilizadas para valorar la disfunción endotelial, el EndoPAT® se ha correlacionado con múltiples factores de riesgo CV tradicionales, como sexo masculino, índice de masa corporal, perímetro de cintura, colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad, diabetes mellitus, tabaquismo, hipertensión y antecedentes familiares de enfermedad coronaria<sup>72</sup>. Y lo que es más importante, un estudio de 270 pacientes con un periodo de seguimiento de 5,8 años demostró que este método diagnóstico añade un valor incremental a la puntuación de riesgo de Framingham<sup>14</sup>. Además, se ha descrito que la evaluación de la disfunción endotelial con el EndoPAT® permite detectar mejoras tras el uso de diferentes terapias, como la de dejar de fumar<sup>73</sup>.

### UTILIDAD DE LAS TÉCNICAS NO INVASIVAS DE EVALUACIÓN ENDOTELIAL

Dado el carácter no invasivo de los métodos utilizados, se puede utilizar estas técnicas en la mayor parte de las personas y repetir las mediciones para efectuar un seguimiento de los cambios aparecidos. Estos aspectos, junto con la elevada reproducibilidad de las determinaciones, principalmente debido al alto nivel de automatización, al menos en algunos de los métodos antes descritos, hacen que estas técnicas sean útiles en la práctica clínica.

Actualmente, estas técnicas se utilizan principalmente con fines de investigación en proyectos que evalúan los mecanismos de la enfermedad en el ser humano, pero también tienen un notable potencial de uso como variables de valoración sustitutivas y es posible que resulten útiles en la evaluación de las intervenciones farmacológicas y no farmacológicas y en los test centrados en la prevención de la enfermedad.

La evaluación de la función endotelial puede ser útil para facilitar la estratificación del riesgo de los pacientes en prevención primaria y secundaria, valorar las respuestas vasculares a tratamientos específicos y la monitorización longitudinal de los pacientes<sup>16</sup>.

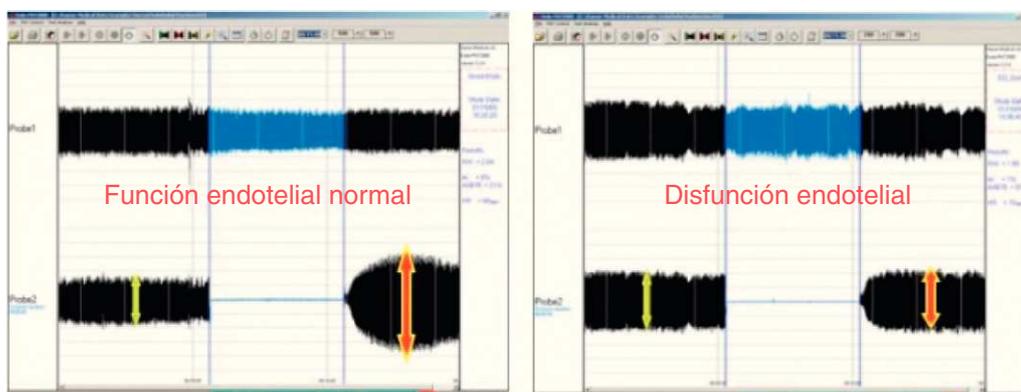


Figura 10. Diferencias entre la función endotelial normal y la disfunción endotelial evaluadas con el EndoPAT®.

**Tabla 2**

Estudios realizados con el empleo de técnicas no invasivas para evaluar la función endotelial

Método de evaluación	Número de pacientes	Población	Tipo de estudio	Seguimiento	Resultados	Primer autor	Año
VMF	500	Individuos asintomáticos	Observacional, retrospectivo	—	La reducción de la VMF está relacionada con la presencia de los FRCV clásicos	Celermajer et al <sup>39</sup>	1994
VMF	213	Individuos no fumadores	Observacional, prospectivo	6 años	La reducción de la VMF está relacionada con la progresión de la enfermedad arterial carotídea preclínica	Witte et al <sup>41</sup>	2009
VMF	199	Pacientes con enfermedad arterial periférica	Observacional, prospectivo	1,2 años	La reducción de la VMF predijo de manera independiente los episodios CV a corto y a largo plazo	Gokce et al <sup>43</sup>	2002-2003
VMF	92	Pacientes que habían sobrevivido a un SCA sin elevación del segmento ST	Observacional, prospectivo	2,06 años	La reducción de la VMF predijo de manera independiente los episodios CV	Karatzis et al <sup>44</sup>	2006
VOP	465	Pacientes con sospecha de EC	Descriptivo	—	El Alx resultó marcador independiente del riesgo de EC prematura	Weber et al <sup>59</sup>	2004
VOP	146	Voluntarios sanos	Descriptivo	—	La reducción del Alx estaba relacionada con mejor estado de forma física (VO <sub>2</sub> máx alto)	Vaitkevicius et al <sup>60</sup>	1993
VOP	1.045	Pacientes hipertensos	Observacional, prospectivo	5,7 años	Los niveles crecientes de la VOP resultaron predictor independiente de los episodios coronarios primarios	Boutouyrie et al <sup>61</sup>	2002
VOP	565	Diabéticos y no diabéticos	Observacional, prospectivo	10 años	La VOP aórtica es un potente predictor independiente de mortalidad	Cruickshank et al <sup>62</sup>	2002
VOP	364	Individuos sanos	Descriptivo	—	La VOP aumentaba en función del número de componentes del SM presentes	Kim <sup>63</sup>	2006
TAP	89	Pacientes con y sin FRCV	Descriptivo	—	El deterioro de la proporción de TAP fue mayor en los pacientes con FRCV	Kuvin et al <sup>67</sup>	2003
TAP	60	Pacientes con FRCV	Descriptivo	—	La proporción de TAP estaba relacionada con la extensión de la EC	Kuvin et al <sup>68</sup>	2007
TAP	94	Pacientes sin enfermedad arterial obstructiva	Descriptivo	—	La proporción de TAP fue más baja en los pacientes con función endotelial microvascular coronaria evaluada mediante una prueba de ACh	Bonetti et al <sup>18</sup>	2004
TAP	22	Individuos sanos	Descriptivo	—	Las determinaciones repetidas del TAP en 30 min, 1 y 2 h no muestran efectos de mantenimiento del efecto. La reproducibilidad de un día a otro es relativamente baja	Liu et al <sup>71</sup>	2009
TAP	1.957	Población general	Descriptivo	—	La proporción de TAP estaba relacionada con múltiples FRCV tradicionales y metabólicos	Hamburg et al <sup>72</sup>	2008
TAP	270	Pacientes con FRCV	Observacional, prospectivo	7 años	La baja proporción de TAP estaba relacionada con mayor incidencia de acontecimientos CV adversos	Rubinshtein et al <sup>14</sup>	2010

Alx: índice de potenciación; CV: cardiovascular; EC: enfermedad coronaria; FRCV: factores de riesgo cardiovascular; SM: síndrome metabólico; TAP: tono arterial periférico; VMF: vasodilatación mediada por flujo; VOP: velocidad de onda del pulso.

## PERSPECTIVAS ACTUALES Y FUTURAS

Se han desarrollado técnicas no invasivas que podrían ser útiles en la evaluación de la disfunción endotelial en la práctica clínica. Sin embargo, quedan muchas cuestiones por resolver en relación

con la utilidad de estas técnicas en la práctica clínica cotidiana. Desde una perspectiva técnica, hay varias cuestiones que habrá que investigar detalladamente antes de que se pueda recomendar el uso habitual de estas técnicas. En primer lugar, debemos establecer si de verdad valoran la función endotelial y con qué

precisión o si reflejan el efecto combinado de muchas variables (dependientes y no dependientes del endotelio) que afectan a las respuestas vasculares. En segundo lugar, es importante estudiar si muestran realmente correlación directa con los efectos de la intervención. Dado que la mayoría de estas técnicas valoran indirectamente la función endotelial y se ven afectadas por la presencia de agentes externos, se debe definir protocolos rigurosos destinados a reducir al mínimo los efectos de estos factores de confusión. Los esfuerzos deberán centrarse en la automatización para hacer que los resultados sean más independientes del operador y mejorar la reproducibilidad de las mediciones.

Es concebible que el uso de estas técnicas en la práctica clínica pueda mejorar la estratificación del riesgo del paciente, ayudar a poner en funcionamiento estrategias preventivas y mejorar también la monitorización del tratamiento. Aunque se han realizado ya varios estudios (tabla 2), serán necesarias nuevas investigaciones en estudios clínicos amplios y que utilicen los patrones de referencia apropiados para evaluar el papel de esta metodología en relación con el diagnóstico y la intervención. Hasta el momento, no disponemos de evidencia suficiente para respaldar el uso de la evaluación de la función endotelial en la práctica clínica. Deberán realizarse estudios clínicos prospectivos y bien diseñados, en individuos de la práctica clínica real, para aclarar si la función endotelial, evaluada con las técnicas descritas en este artículo, constituye un factor de riesgo independiente y/o un marcador del riesgo independiente que aporte información adicional respecto a la proporcionada por los factores de riesgo CV clásicos. Deberán efectuarse también comparaciones de los diferentes instrumentos de evaluación del riesgo actualmente utilizadas en la práctica clínica y la evaluación de la función endotelial.

Otras posibles aplicaciones clínicas son la monitorización dinámica del tratamiento, ya que, a diferencia de los factores de riesgo CV convencionales, la función endotelial es un proceso dinámico. Así pues, estas nuevas técnicas deberán permitir una mejor evaluación a corto plazo. La obtención de evidencia que documente que realmente es así requerirá dos pasos. En primer lugar, debe establecerse (mediante intervenciones abiertas observacionales a largo plazo) si la evaluación de la función endotelial permite identificar los tratamientos preventivos eficaces e ineficaces mejor que con los factores de riesgo convencionales. En segundo lugar, deben realizarse estudios para demostrar que la intensificación del tratamiento que conduce a una mejora de la función endotelial mejora también la evolución clínica de los pacientes.

Entre los campos de futuro interés, se encuentra también la relación de la disfunción endotelial con el número y la función de las células progenitoras endoteliales circulantes y su modulación terapéutica, así como los factores genéticos que influyen en la función endotelial. Mientras no se disponga de respuestas a estas preguntas, estas técnicas continuarán siendo instrumentos de investigación útiles.

## FINANCIACIÓN

El Dr. Laclaustra disfruta de una beca Miguel Servet (CP08/00112) del Instituto de Salud Carlos III (España).

## CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

## BIBLIOGRAFÍA

- Cannon CP, Steinberg BA, Murphy SA, Mega JL, Braunwald E. Meta-analysis of cardiovascular outcomes trials comparing intensive versus moderate statin therapy. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:438-45.
- Wald NJ, Law MR. A strategy to reduce cardiovascular disease by more than 80%. *BMJ*. 2003;326:1419.
- Law MR, Wald NJ. Risk factor thresholds: their existence under scrutiny. *BMJ*. 2002;324:1570-6.
- Simon A, Chironi G, Levenson J. Comparative performance of subclinical atherosclerosis tests in predicting coronary heart disease in asymptomatic individuals. *Eur Heart J*. 2007;28:2967-71.
- Taddei S, Virdis A, Mattei P, Arzilli F, Salvetti A. Endothelium-dependent forearm vasodilation is reduced in normotensive subjects with familial history of hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1992;20 Suppl 12:S193-5.
- Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115:1285-95.
- Flammer AJ, Lüscher TF. Three decades of endothelium research: from the detection of nitric oxide to the everyday implementation of endothelial function measurements in cardiovascular diseases. *Swiss Med Wkly*. 2010;140:w13122.
- Zeiber AM, Schächinger V, Minners J. Long-term cigarette smoking impairs endothelium-dependent coronary arterial vasodilator function. *Circulation*. 1995;92:1094-100.
- Spieker LE, Sudano I, Hürlimann D, Lerch PG, Lang MG, Binggeli C, et al. High-density lipoprotein restores endothelial function in hypercholesterolemic men. *Circulation*. 2002;105:1399-402.
- Mäkimattila S, Virkamäki A, Groop PH, Cockcroft J, Utriainen T, Fagerudd J, et al. Chronic hyperglycemia impairs endothelial function and insulin sensitivity via different mechanisms in insulin-dependent diabetes mellitus. *Circulation*. 1996;94:1276-82.
- Steinberg HO, Chaker H, Leaming R, Johnson A, Brechtel G, Baron AD. Obesity/insulin resistance is associated with endothelial dysfunction. Implications for the syndrome of insulin resistance. *J Clin Invest*. 1996;97:2601-10.
- Flammer AJ, Vo NTT, Ledergerber B, Hermann F, Gämperli A, Huttner A, et al. Effect of atazanavir versus other protease inhibitor-containing antiretroviral therapy on endothelial function in HIV-infected persons: randomised controlled trial. *Heart*. 2009;95:385-90.
- Flammer AJ, Sudano I, Hermann F, Gay S, Forster A, Neidhart M, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition improves vascular function in rheumatoid arthritis. *Circulation*. 2008;117:2262-9.
- Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J*. 2010;31:1142-8.
- Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315:1046-51.
- Penny WF, Ben-Yehuda O, Kuroe K, Long J, Bond A, Bhargava V, et al. Improvement of coronary artery endothelial dysfunction with lipid-lowering therapy: heterogeneity of segmental response and correlation with plasma-oxidized low density lipoprotein. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:766-74.
- Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, DeLagrange D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26:1235-41.
- Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes Jr DR, Kuvin JT, Lerman A. Non-invasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44:2137-41.
- Leung DY, Leung M. Non-invasive/invasive imaging: significance and assessment of coronary microvascular dysfunction. *Heart*. 2011;97:587-95.
- Van Hoydonck PGA, Schouten EG, Temme EHM. Reproducibility of blood markers of oxidative status and endothelial function in healthy individuals. *Clin Chem*. 2003;49(6 Pt 1):963-5.
- De Caterina R, Basta G, Lazzarini G, Dell'Omo G, Petrucci R, Morale M, et al. Soluble vascular cell adhesion molecule-1 as a biohumoral correlate of atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997;17:2646-54.
- Mocco J, Choudhri TF, Mack WJ, Laufer I, Lee J, Kiss S, et al. Elevation of soluble intercellular adhesion molecule-1 levels in symptomatic and asymptomatic carotid atherosclerosis. *Neurosurgery*. 2001;48:718-21.
- Blann AD, Farrell A, Picton A, McCollum CN. Relationship between endothelial cell markers and arterial stenosis in peripheral and carotid artery disease. *Thromb Res*. 2000;97:209-16.
- Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet*. 1992;340:1111-5.
- Anderson EA, Mark AL. Flow-mediated and reflex changes in large peripheral artery tone in humans. *Circulation*. 1989;79:93-100.
- Laclaustra M, Frangi AF, Garcia D, Boisrobert L, Frangi AG, Pascual I. Detailed exploration of the endothelium: parameterization of flow-mediated dilation through principal component analysis. *Physiol Meas*. 2007;28:301-20.
- Charakida M, Masi S, Lüscher TF, Kastelein JJP, Deanfield JE. Assessment of atherosclerosis: the role of flow-mediated dilatation. *Eur Heart J*. 2010;31:2854-61.
- Al-Qaisi M, Kharbanda RK, Mittal TK, Donald AE. Measurement of endothelial function and its clinical utility for cardiovascular risk. *Vasc Health Risk Manag*. 2008;4:647-52.

29. Bots ML, Westerink J, Rabelink TJ, De Koning EJP. Assessment of flow-mediated vasodilatation (FMD) of the brachial artery: effects of technical aspects of the FMD measurement on the FMD response. *Eur Heart J*. 2005;26:363-8.
30. Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, Celermajer D, Charbonneau F, Creager MA, et al. Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002;39:257-65.
31. Thijssen DHJ, Black MA, Pyke KE, Padilla J, Atkinson G, Harris RA, et al. Assessment of flow-mediated dilation in humans: a methodological and physiological guideline. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011;300:H2-12.
32. Doshi SN, Naka KK, Payne N, Jones CJ, Ashton M, Lewis MJ, et al. Flow-mediated dilatation following wrist and upper arm occlusion in humans: the contribution of nitric oxide. *Clin Sci*. 2001;101:629-35.
33. Mullen MJ, Kharbada RK, Cross J, Donald AE, Taylor M, Vallance P, et al. Heterogenous nature of flow-mediated dilatation in human conduit arteries in vivo: relevance to endothelial dysfunction in hypercholesterolemia. *Circ Res*. 2001;88:145-51.
34. Pálincás A, Tóth E, Venneri L, Rigo F, Csanády M, Picano E. Temporal heterogeneity of endothelium-dependent and -independent dilatation of brachial artery in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiovasc Imaging*. 2002;18:337-42.
35. Frangi AF, Laclaustra M, Lamata P. A registration-based approach to quantify flow-mediated dilation (FMD) of the brachial artery in ultrasound image sequences. *IEEE Trans Med Imaging*. 2003;22:1458-69.
36. Sonka M, Liang W, Lauer RM. Automated analysis of brachial ultrasound image sequences: early detection of cardiovascular disease via surrogates of endothelial function. *IEEE Trans Med Imaging*. 2002;21:1271-9.
37. Donald AE, Charakida M, Falaschetti E, Lawlor DA, Halcox JP, Golding J, et al. Determinants of vascular phenotype in a large childhood population: the Avon Longitudinal Study of Parents and Children (ALSPAC). *Eur Heart J*. 2010;31:1502-10.
38. Gori T, Parker JD, Münzel T. Flow-mediated constriction: further insight into a new measure of vascular function. *Eur Heart J*. 2011;32:784-7.
39. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24:1468-74.
40. Laclaustra M, Frangi AF, Frangi AG, Casasnovas JA, Cia P. Association of endothelial function and vascular data with LDL-c and HDL-c in a homogeneous population of middle-aged, healthy military men: Evidence for a critical role of optimal lipid levels. *Int J Cardiol*. 2008;125:376-82.
41. Witte DR, Westerink J, De Koning EJ, Van der Graaf Y, Grobbee DE, Bots ML. Is the association between flow-mediated dilation and cardiovascular risk limited to low-risk populations? *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1987-93.
42. Halcox JJP, Donald AE, Ellins E, Witte DR, Shipley MJ, Brunner EJ, et al. Endothelial function predicts progression of carotid intima-media thickness. *Circulation*. 2009;119:1005-12.
43. Gokce N, Keaney Jr JF, Hunter LM, Watkins MT, Nedeljkovic ZS, Menzoian JO, et al. Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2003;41:1769-75.
44. Karatzis EN, Ikonomidis I, Vamvakou GD, Papaioannou TG, Protogerou AD, Andreadou I, et al. Long-term prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery after acute coronary syndromes without ST elevation. *Am J Cardiol*. 2006;98:1424-8.
45. Gokce N, Keaney Jr JF, Hunter LM, Watkins MT, Menzoian JO, Vita JA. Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. *Circulation*. 2002;105:1567-72.
46. Zambanini A, Cunningham SL, Parker KH, Khir AW, McG Thom SA, Hughes AD. Wave-energy patterns in carotid, brachial, and radial arteries: a noninvasive approach using wave-intensity analysis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2005;289:H270-6.
47. Nelson MR, Stepanek J, Cevette M, Covalciuc M, Hurst RT, Tajik AJ. Noninvasive measurement of central vascular pressures with arterial tonometry: clinical revival of the pulse pressure waveform? *Mayo Clin Proc*. 2010;85:460-72.
48. Hayward CS, Kraidly M, Webb CM, Collins P. Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis: a clinical application. *J Am Coll Cardiol*. 2002;40:521-8.
49. Rietzschel ER, Boeykens E, De Buyzere ML, Duprez DA, Clement DL. A comparison between systolic and diastolic pulse contour analysis in the evaluation of arterial stiffness. *Hypertension*. 2001;37:E15-22.
50. Cavalcante JL, Lima JAC, Redheuil A, Al-Mallah MH. Aortic stiffness: current understanding and future directions. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57:1511-22.
51. Adji A, Hirata K, O'Rourke MF. Clinical use of indices determined non-invasively from the radial and carotid pressure waveforms. *Blood Press Monit*. 2006;11:215-21.
52. Horváth IG, Németh A, Lenkey Z, Alessandri N, Tufano F, Kis P, et al. Invasive validation of a new oscillometric device (Arteriograph) for measuring augmentation index, central blood pressure and aortic pulse wave velocity. *J Hypertens*. 2010;28:2068-75.
53. Wassertheurer S, Kropf J, Weber T, Van der Giet M, Baulmann J, Ammer M, et al. A new oscillometric method for pulse wave analysis: comparison with a common tonometric method. *J Hum Hypertens*. 2010;24:498-504.
54. Sigris MK, Chiarelli G, Levin A, Romann A, Weber C. Pulse wave velocity measurements are reproducible in multiple trained observers: a short report. *Nephron Clin Pract*. 2010;116:c60-4.
55. Van Leeuwen-Segarceanu EM, Tromp WF, Bos W-JW, Vogels OJ, Groothoff JW, Van der Lee JH. Comparison of two instruments measuring carotid-femoral pulse wave velocity: Vicorder versus SphygmoCor. *J Hypertens*. 2010;28:1687-91.
56. Wilkinson IB, Fuchs SA, Jansen IM, Spratt JC, Murray GD, Cockcroft JR, et al. Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis. *J Hypertens*. 1998;16(12 Pt 2):2079-84.
57. Naidu MUR, Reddy BM, Yashmaina S, Patnaik AN, Rani PU. Validity and reproducibility of arterial pulse wave velocity measurement using new device with oscillometric technique: a pilot study. *Biomed Eng Online*. 2005;4:49.
58. Eddy DM, Adler J, Patterson B, Lucas D, Smith KA, Morris M. Individualized guidelines: the potential for increasing quality and reducing costs. *Ann Intern Med*. 2011;154:627-34.
59. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, Berent R, et al. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. *Circulation*. 2004;109:184-9.
60. Vaitkevicius PV, Fleg JL, Engel JH, O'Connor FC, Wright JG, Lakatta LE, et al. Effects of age and aerobic capacity on arterial stiffness in healthy adults. *Circulation*. 1993;88(4 Pt 1):1456-62.
61. Boutouyrie P, Tropeano AI, Asmar R, Gautier I, Benetos A, Lacolley P, et al. Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*. 2002;39:10-5.
62. Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, Wright JS, Dunn G, Gosling RG. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function? *Circulation*. 2002;106:2085-90.
63. Kim YK. Impact of the metabolic syndrome and its components on pulse wave velocity. *Korean J Intern Med*. 2006;21:109-15.
64. Vlachopoulos K, Aznaouridis K, Stefanadis C. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with arterial stiffness: a systematic review and meta-analysis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:1318-27.
65. Hertzman AB. Observations on the finger volume pulse recorded photo-electrically. *Am J Physiol*. 1937;119:334-5.
66. Millasseau SC, Ritter JM, Takazawa K, Chowieniczky PJ. Contour analysis of the photoplethysmographic pulse measured at the finger. *J Hypertens*. 2006;24:1449-56.
67. Kuvin JT, Patel AR, Sliney KA, Pandian NG, Sheffy J, Schnell RP, et al. Assessment of peripheral vascular endothelial function with finger arterial pulse wave amplitude. *Am Heart J*. 2003;146:168-74.
68. Kuvin JT, Mammen A, Mooney P, Alsheikh-Ali AA, Karas RH. Assessment of peripheral vascular endothelial function in the ambulatory setting. *Vasc Med*. 2007;12:13-6.
69. Reisner Y, Lusky R, Shay-El Y, Schnell R, Herscovici S. Reproducibility of endothelial function and arterial stiffness assessed using finger peripheral arterial tonometry. *Eur Heart J*. 2008;Suppl 29:491.
70. Nohria A, Gerhard-Herman M, Creager MA, Hurley S, Mitra D, Ganz P. Role of nitric oxide in the regulation of digital pulse volume amplitude in humans. *J Appl Physiol*. 2006;101:545-8.
71. Liu J, Wang J, Jin Y, Roethig HJ, Unverdorben M. Variability of peripheral arterial tonometry in the measurement of endothelial function in healthy men. *Clin Cardiol*. 2009;32:700-4.
72. Hamburg NM, Keyes MJ, Larson MG, Vasan RS, Schnabel R, Pryde MM, et al. Cross-sectional relations of digital vascular function to cardiovascular risk factors in the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117:2467-74.
73. Komatsu H, Hara H, Nemoto N. Only short-term smoking cessation improves endothelial dysfunction; non-invasive evaluation used new device. *Endo-PAT 2000. Eur Heart J*. 2007;28 Suppl 1:587.