

DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA  
MOL·LECULAR

FRAGMENTO N-TERMINAL DEL PROPEPTIDO  
NATRIURÉTICO TIPO B (NT-proBNP), RESPUESTA  
INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA  
HIPERTENSIÓN ESENCIAL.

ESTHER ROSELLÓ LLETÍ

UNIVERSITAT DE VALÈNCIA  
Servei de Publicacions  
2011

Aquesta Tesi Doctoral va ser presentada a València el dia 31 de maig de 2011 davant un tribunal format per:

- Dr. Guillermo Sáez Tormo
- Dra. María Eugenia González Barderas
- Dra. Concepción Vicenta Llorente Cortés
- Dr. José Ramón González Juanatey
- Dra. Eulalia Alonso Iglesias

Va ser dirigida per:

Dr. Miguel Rivera Otero

Dr. Manuel Portolés Sanz

©Copyright: Servei de Publicacions  
Esther Roselló Lletí

---

I.S.B.N.: 978-84-370-8507-4

Edita: Universitat de València

Servei de Publicacions

C/ Arts Gràfiques, 13 baix

46010 València

Spain

Telèfon:(0034)963864115



VNIVERSITAT  
ID VALÈNCIA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
&  
HOSPITAL UNIVERSITARIO LA FE  
CENTRO DE INVESTIGACIÓN

FRAGMENTO N-TERMINAL DEL  
PROPÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO B  
(NT-proBNP), RESPUESTA  
INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO  
EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL

Tesis Doctoral  
Presentada por:  
ESTHER ROSELLÓ LLETÍ  
Valencia, 2011

UNIVERSIDAD DE VALENCIA  
Departamento Bioquímica y Biología Molecular  
HOSPITAL UNIVERSITARIO LA FE  
Centro de Investigación  
Unidad de Cardiocirculación  
Unidad de Biología y Patología Celular

“FRAGMENTO N-TERMINAL DEL  
PROPÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO B  
(NT-proBNP), RESPUESTA INFLAMATORIA  
Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA  
HIPERTENSIÓN ESENCIAL”

Memoria presentada por  
Esther Roselló Lletí  
Para aspirar al grado de Doctor  
Valencia, 2011



**HOSPITAL UNIVERSITARIO LA FE**  
**Centro de Investigación**  
**Valencia**

**D. MIGUEL RIVERA OTERO**, Jefe de Sección de la Unidad de Cardiocirculación del Centro de Investigación del Hospital Universitario La Fe de Valencia, y

**D. MANUEL PORTOLÉS SANZ**, Facultativo Especialista de la Unidad de Biología y Patología Celular del Centro de Investigación del Hospital Universitario La Fe de Valencia.

CERTIFICAN:

Que **Dña ESTHER ROSELLÓ LLETÍ**, Licenciada en Ciencias Biológicas por la Universitat de València, ha realizado bajo nuestra dirección en el Hospital Universitario La Fe de Valencia, en las Unidades de Cardiocirculación y de Biología y Patología Celular del Centro de Investigación de este Hospital, el trabajo experimental conducente a la elaboración de la presente memoria de investigación destinada a Tesis Doctoral, que se presenta bajo el título de: “FRAGMENTO N-TERMINAL DEL PROPÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO B (NT-proBNP), RESPUESTA INFLAMATORIA Y ESTRÉS OXIDATIVO EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL”.

Y para que así conste, expido el presente en Valencia a 20 de Enero de dos mil once.

Fdo. Dr. Miguel Rivera Otero

Fdo. Dr. Manuel Portolés Sanz

Este trabajo ha sido financiado por los siguientes proyectos:

- “Monitorización bioquímica de la evolución del paciente hipertenso. Estudio clínico”. FIS (03/0241), Instituto de salud Carlos III, Fondo de Investigaciones Sanitarias.
- “Hipertensión arterial. Valor de NT-proBNP y neurohormonas”. EVES (APO53/2004). Escuela Valenciana de estudios para la Salud.
- “Apoptosis, colágeno intersticial y función diastólica en la hipertensión esencial” Fundació Gent per Gent, Ajudes per a la Investigació en Enfermetats Cardiovasculars.

A Paula

## AGRAÏMENTS

En aquest punt es fa difícil agrair a tantes persones l'ajuda rebuda només amb quatre paraules, però ho intentaré.

En primer lloc els meus agraïments van dirigits als directors d'aquesta tesi, el Dr. Miguel Rivera i el Dr. Manuel Portolés. A Miguel, agrair-li l'estímul i l'encoratjament que ha despertat en mi amb les seues reflexions i la seua enorme exigència. Ha aconseguit donar-me el to precís. A Manolo, per demostrar-me que es pot gaudir amb el treball. Gràcies per la seua contagiosa positivitat i tranquil·litat. Sobretot per ser un exemple tant professional com personal.

Al Dr. Andrés González Molina, Secció de Immunologia Experimental, que encara que per desgràcia ja no podrà llegir aquestes línies, no puc deixar d'agrair-li el seu constant interès per mi. Per formar part de la meua formació a l'etapa inicial d'aquest projecte i per transmetre'm el seu esperit de treball i la il·lusió per tirar endavant.

Al Dr. Jaime Renau, Cap de Secció de Biologia i Patologia Cel·lular, per la seua generositat. Per fer-me un lloc i acollir-me al seu laboratori.

Al personal de les Unitats de Cardiologia del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Centro de Especialidades Virgen de los Reyes de Sevilla, Hospital General de Alicante, Hospital General de Valencia, Hospital General Universitario de Elche, Hospital Marina Baixa de Vilajoyosa, Hospital San Francesc de Borja de Gandía, Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia, Hospital Universitario San Juan de Alicante, Hospital Virgen de Arrixaca de Murcia y Hospital Universitario La Fe de Valencia, per la ajuda rebuda en el reclutament de pacients. A Marisa Estarlich de l'Escola Valenciana d'Estudis per a la Salut, per la seua col·laboració en el correcte anàlisi estadístic dels resultats d'aquesta tesi doctoral.

El més sincer agraïment és per a la meua companya Raquel Cortés. Hem compartit moltes experiències, hem gaudit molt dels bons moments i ens hem recolzat en els dolents. Per haver anat sempre obrint pas.

Vull donar les gràcies a la resta de companys del Centre d'Investigació, la meua altra xicoteta família formada a força de suport i afecte, Núria Carpena, Ana Romero, Pilar Martín, Guillermo Esteban, Luis Ramón Andrés, Cecilia Ortiz, Roger Vílchez i de forma especial a les més veteranes, Inma Azorín, Lorena Gómez i Pilar Marín, perquè ha estat increïblement fàcil establir una bona amistat amb elles. Aquest camí no hagués sigut el mateix sense vosaltres, mil gràcies pel bon rotllo.

També vull agrair a les veïnes del pis de dalt, Secció de Bioquímica, Silvia Navarro, Pili Medina i Elena Fernández, les divertides converses compartides a l'hora de dinar i els pràctics consells intercanviats de “mami a mami”.

A les meues amigues de tota la vida, per preocupar-se tant per mi i pels seus bons consells. Per mostrar-se sempre tan interessades pel meu treball.

I finalment, però el més important, a la meua família. Per la vostra paciència i el suport incondicional durant tot aquest temps.

A tots i totes, moltes gràcies!

*La ciencia se compone de errores, que a su vez, son los pasos hacia la verdad*  
Julio Verne (1828-1905)

*Las ciencias tienen las raíces amargas, pero muy dulces los frutos*  
Aristóteles (384 aC-322 aC)

*Son vanas y están plagadas de errores las ciencias que no han nacido del experimento, madre  
de toda certidumbre*  
Leonardo Da Vinci (1452-1519)

*Los conceptos y principios fundamentales de la ciencia son invenciones libres del espíritu  
humano*  
Albert Einstein (1879-1955)

*Ciencia es todo aquello sobre lo cual siempre cabe discusión*  
José Ortega y Gasset (1883-1955)

*De la discussió naix la llum, diuen. I l'experiència demostra que, efectivament, cadascú sol  
quedar-se amb les mateixes conviccions que tenia abans de discutir, però més clares*  
Joan Fuster (1922-1992)

## ABREVIATURAS

ABC = Área bajo la curva  
ARA II = Antagonistas de los receptores de angiotensina II  
DPAV = Desplazamiento del plano auriculoventricular  
E/A = Cociente de la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del VI  
FGR = Filtrado glomerular renal  
FE = Fracción de eyección  
GSID = Grosor del septo interventricular en diástole  
GPPD = Grosor de pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole  
HTA = Hipertensión arterial esencial  
HVI = Hipertrofia ventricular izquierda  
IECA = Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina  
IMC = Índice de masa corporal  
IMVI = Índice de masa del ventrículo izquierdo  
IL-1 = Interleucina-1  
IL-1ra = Antagonista del receptor de la interleucina-1  
IL-6 = Interleucina-6  
IVRT = Tiempo de relajación isovolumétrica  
IVTD = Índice de volumen telediastólico  
IVTS = Índice de volumen telesistólico  
NT-proBNP = Fragmento N-terminal del péptido natriurético tipo B  
PN = Péptidos natriuréticos  
PINP = Propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I  
PIIINP = Propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III  
ROC = Receiver operating characteristic curve  
sFas = Receptor soluble Fas  
sTNF-R1 = Receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa  
sTNF-R2 = Receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa  
TAS = Tensión arterial sistólica  
TAD = Tensión arterial diastólica  
TNF-alfa = Factor de necrosis tumoral alfa  
TD = Tiempo de deceleración  
8-OHdG = 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina  
VI = Ventrículo izquierdo  
Vp = Velocidad de propagación del flujo mitral  
VPN = Valor predictivo negativo  
VPP = Valor predictivo positivo

# ÍNDICE

---

<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>1</b>
1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	2
1.1. DEFINICIÓN E EPIDEMIOLOGÍA.....	2
1.2. EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA.....	4
1.3. TRATAMIENTO.....	5
1.3.1.Tratamiento no farmacológico.....	6
1.3.2.Tratamiento farmacológico.....	6
1.4. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR.....	8
1.5. REPERCUSIONES CARDIACAS.....	12
1.5.1.Hipertrofia ventricular izquierda.....	12
1.5.2.Fibrosis miocárdica.....	15
1.5.3.Cambios en la función ventricular izquierda.....	17
1.6. FISIOPATOLOGÍA .....	17
2. PÉPTIDOS NATRIURÉTICOS.....	22
2.1. TIPOS.....	22
2.2. RECEPTORES CELULARES Y ACLARAMIENTO.....	26
2.3. ACCIONES FISIOLÓGICAS.....	28
2.4. VARIABILIDAD.....	31
2.5. PAPEL EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	32
3. RESPUESTA INFLAMATORIA.....	34
3.1. CITOCINAS.....	34
3.2. APOPTOSIS.....	42
3.2.1.Proceso de apoptosis.....	42
3.2.2.Diferentes vías de apoptosis.....	44
3.3. ESTRÉS OXIDATIVO.....	48
3.3.1.Radicales libres y especies reactivas del oxígeno.....	48
3.3.2.Estrés oxidativo, función endotelial e hipertensión.....	50
3.4. RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.....	52
 <b>II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	 <b>55</b>

---

---

<b>III. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>59</b>
1. ESTUDIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA.....	60
1.1. PACIENTES.....	60
1.2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS.....	63
1.2.1.Sanguíneas.....	63
1.2.2.Urinarias.....	63
1.3. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL FRAGMENTO N-TERMINAL DEL PROPÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO B (NT-proBNP).....	64
1.4. MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL PROPÉPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO I (PINP).....	66
1.5. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF-alfa, caquectina).....	67
1.6. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR SOLUBLE TIPO 1 DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (sTNF-R1, p55/p60, sCD120a, TNFRSF1A).....	68
1.7. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR SOLUBLE TIPO 2 DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (sTNF-R2, p75/p80, sCD120b, TNFRSF1B).....	70
1.8. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 (IL-6, BSF2, IFNB2).....	72
1.9. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE LA INTERLEUCINA-1 (IL-1ra, IL-1F3).....	73
1.10. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR FAS EN SU FORMA SOLUBLE (sFAS, CD95, APO-1, TNFRSF6).....	74

1.11. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE 8-HIDROXI-2'-DESOXIGUANOSINA (8-OHdG, 8-oxo-dG).....	75
1.12. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROPÉPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO III (PIIINP).....	76
2. ESTUDIO ECOCARDIOGRÁFICO.....	79
2.1. PACIENTES.....	79
2.2. OBTENCIÓN IMÁGENES ECO-DOPPLER.....	80
2.3. PARÁMETROS DE FUNCIÓN VENTRICULAR.....	82
2.3.1. Función sistólica del ventrículo izquierdo.....	82
2.3.2. Función diastólica del ventrículo izquierdo.....	84
2.3.3. Masa del ventrículo izquierdo.....	89
2.4. VALORES DE REFERENCIA.....	90
3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	92
<b>IV. RESULTADOS.....</b>	<b>94</b>
1. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	95
2. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD.....	100
3. NIVELES URINARIOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON SUS CONCENTRACIONES SÉRICAS, CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	104
4. VARIABILIDAD DE LOS NIVELES DE NT-proBNP EN SUERO EN PACIENTES ESTABLES CON HIPERTENSIÓN ESENCIAL, EN UN SEGUIMIENTO A DOS AÑOS.....	108
5. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN	

ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	115
6. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD.....	121
7. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LOS NIVELES DE NT- proBNP.....	123
8. APOPTOSIS, COLÁGENO INTERSTICIAL Y FUNCIÓN DIASTÓLICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL.....	123
9. NIVELES URINARIOS DE 8-OHdG EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON LA HVI Y CON LA INFLAMACIÓN.....	129
<b>V. DISCUSIÓN.....</b>	<b>134</b>
1. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	135
2. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD.....	138
3. NIVELES URINARIOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON SUS CONCENTRACIONES SÉRICAS, CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	141
4. VARIABILIDAD DE LOS NIVELES DE NT-proBNP EN SUERO EN PACIENTES ESTABLES CON HIPERTENSIÓN ESENCIAL, EN UN SEGUIMIENTO A DOS AÑOS.....	145
5. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA.....	148

---

6. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD.....	151
7. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LOS NIVELES DE NT- proBNP.....	153
8. APOPTOSIS, COLÁGENO INTERSTICIAL Y FUNCIÓN DIASTÓLICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL.....	154
9. NIVELES URINARIOS DE 8-OHdG EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON LA HVI Y CON LA INFLAMACIÓN.....	157
<b>VI. CONCLUSIONES.....</b>	<b>161</b>
<b>VII. REFERENCIAS.....</b>	<b>165</b>

# I. INTRODUCCIÓN

# 1. HIPERTENSIÓN ARTERIAL

## 1.1. DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGÍA

La hipertensión arterial (HTA) se define como una elevación crónica de la presión arterial sistólica y/o diastólica, con cifras que se sitúan en la parte derecha de la distribución normal de la población general y por encima de unos límites, a partir de los cuales aumenta de forma progresiva la morbimortalidad por un excesivo riesgo cardiovascular (Guindo Soldevilla 2004). Se trata de un factor de riesgo de vital importancia en el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y representa un significativo problema de salud pública. La definición de HTA es arbitraria y en las clasificaciones de la presión arterial para adultos, el valor de presión arterial normal cada vez ha sido menor. Actualmente el informe de la Clasificación del *Joint National Committee VI* y de la Organización Mundial de la Salud (OMS), definen como HTA las cifras de presión arterial sistólica >140 mm Hg y de presión arterial diastólica >90 mm Hg en pacientes que no estén tomando medicación.

Debido a las importantes implicaciones económicas y sociales que esta patología supone, son numerosas las guías clínicas dedicadas a su evaluación, diagnóstico y tratamiento. En la actualidad se mantiene la clasificación de la hipertensión utilizada en las guías de HTA de las Sociedades Europeas de Cardiología e HTA (Mancia *et al.*, 2007) (Tabla 1), aunque en noviembre de 2009 ha habido una reevaluación de las mismas, en la que se recomienda reducir los valores de presión arterial sistólica/diastólica dentro del rango 130-139/80-85 mm Hg, en todos los pacientes hipertensos (Mancia *et al.*, 2009).

Tabla 1. Clasificación de los valores de presión arterial.

Categoría	PAS		PAD
Óptima	<120	y	<80
Normal	120-129	y/o	80-84
Normal alta	130-139	y/o	85-89
Hipertensión de grado 1	140-159	y/o	90-99
Hipertensión de grado 2	160-179	y/o	100-109
Hipertensión de grado 3	≥180	y/o	≥110
Hipertensión sistólica aislada	≥140	y	≤90

PAD, presión arterial diastólica; PAS, presión arterial sistólica (*Modificada de Mancia G et al. Guías de práctica clínica para el tratamiento de la hipertensión arterial 2007. Rev Esp Cardiol 2007;60:968.e1-e94*)

Existen datos en diferentes estudios que ponen de manifiesto que en pacientes con elevado riesgo cardiovascular el tratamiento antihipertensivo que reduce la presión arterial sistólica a valores por debajo de 120-125 mm Hg y la presión arterial diastólica por debajo de 70-75 mm Hg pueden estar acompañados por un incremento en la incidencia de eventos coronarios, esto se debe al fenómeno de curva en “J” (Mancia *et al.*, 2009).

La hipertensión esencial, también denominada primaria o idiopática, representa más del 90% de los casos de HTA y no tiene una causa única conocida. En un pequeño grupo de pacientes, puede identificarse una causa responsable del aumento de las cifras de presión arterial, se trata de hipertensión secundaria (de origen renal, endocrino, psicógeno, neurológico, farmacológico, relacionada con alteraciones vasculares o con la gestación).

La HTA es un factor de riesgo cardiovascular reconocido, responsable de una morbimortalidad cardiovascular elevada (Kanner *et al.*, 1995, Stambler *et al.*, 1993) y es una de las patologías más prevalentes en las sociedades industrializadas (Wolf-Maier *et al.*, 2003, Kearney *et al.*, 2005, Martiniuk *et al.*, 2007). Aunque se estima que más de la mitad de los pacientes hipertensos no están diagnosticados, en España la prevalencia de la HTA es alta, con unas cifras que oscilan entre el 23 y el 45% (Gabriel *et al.*, 2008, Vara-González *et al.*, 2007, Basterra-Gortari *et al.*, 2007, Segura *et al.*, 1999, Grima Serrano *et al.*, 1999, Masiá *et al.*, 1998, Banegas *et al.*, 1998, Tomás-Abadal *et al.*, 1994) y se incrementa con el aumento de la edad hasta un 68% (Banegas *et al.*, 2002). Además, representa el determinante de enfermedad cardiovascular más prevalente en este país (González-Juanatey *et al.*, 2001).

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que la morbilidad y la mortalidad cardiovasculares mantienen una relación continua tanto con la presión arterial sistólica como con la diastólica. Esta relación es menos pronunciada para los episodios coronarios que para el ictus, al que se considera como la complicación más importante relacionada con la HTA (MacMahon *et al.*, 1990, Lewington *et al.*, 2002). Sin embargo, en varias zonas europeas, el exceso de muertes debido a una presión arterial elevada, es mayor para los episodios coronarios que para el ictus, puesto que la cardiopatía sigue siendo el trastorno cardiovascular más frecuente.

La presión arterial sistólica y la diastólica muestran una relación independiente y gradual con la insuficiencia cardiaca, la enfermedad arterial periférica y la enfermedad renal en fase terminal (Kannel 1996, Levy *et al.*, 1996, Criqui *et al.*, 1992, Klag *et al.*, 1996). En consecuencia, se debe considerar la hipertensión un factor de riesgo importante para todo un conjunto de enfermedades cardiovasculares, así como para patologías que a su vez dan lugar a un notable aumento del riesgo cardiovascular.

Por todo ello y por la gran prevalencia de la HTA en la población, la OMS la considera como primera causa de muerte en todo el mundo (Ezzati *et al.*, 2002).

## 1.2. EVALUACIÓN DIAGNÓSTICA

Debe realizarse una evaluación clínica, cuyos objetivos son: a) confirmar la elevación crónica de la presión arterial y el nivel de elevación, b) excluir o identificar causas de HTA secundaria, c) determinar la presencia de afectación visceral y su severidad, d) determinar la presencia de factores de riesgo cardiovascular asociados, y e) diagnosticar la existencia de situaciones clínicas asociadas y patologías que condicionen el pronóstico y el tratamiento.

El diagnóstico de HTA se basa en una exploración determinando múltiples medidas de presión arterial, realizadas en diferentes ocasiones, separadas en el tiempo, o puede efectuarse una determinación automática durante 24 horas, ajustándose a unas condiciones y metodología adecuadas. (Mancia *et al.*, 2007). En algunos estudios se ha demostrado que la presión arterial de la consulta tiene poca relación con la presión arterial de 24 horas. La monitorización ambulatoria de la presión arterial de 24 horas permite obtener información sobre los perfiles de presión arterial diurno y nocturno, la diferencia de presión arterial entre el día y la noche, el aumento de la presión arterial de la mañana y la variabilidad de la presión arterial. Se ha descrito, que los individuos en los que la reducción nocturna de la presión arterial está amortiguada (*non-dippers*) presentan una mayor prevalencia de lesiones de órganos y una evolución menos favorable (O'Brien *et al.*, 1988), aunque en otros estudios este valor pronóstico se perdía al incluir en el análisis

multivariante la presión arterial media de 24 horas (Staessen et al. 1999, Clement *et al.*, 2003, Fagard y Celis 2004).

También debe realizarse una exploración física registrándose cuidadosamente la frecuencia cardíaca, el perímetro de cintura con el paciente en bipedestación, y obtenerse el peso corporal y la talla para calcular el índice de masa corporal mediante su fórmula estándar. Además, se realizan una serie de pruebas complementarias como la analítica de sangre básica (hemograma, glucosa, colesterol, triglicéridos, ácido úrico, creatinina, iones) y la analítica de sangre opcional (fracciones de colesterol, hemoglobina glicosilada, calcio, microalbuminuria, aclaramiento de creatinina), analítica de orina, electrocardiograma y ecocardiograma. El ecocardiograma es la técnica más sensible para detectar la presencia de hipertrofia del ventrículo izquierdo, y por otra parte, permite valorar la función sistólica y diastólica, y diagnosticar y evaluar la presencia de otras alteraciones cardiológicas asociadas (Asín Cardiel *et al.*, 1996).

Por otra parte, es importante valorar la historia clínica del paciente (Sierra *et al.*, 1998), antecedentes familiares de HTA como diabetes, dislipemia, enfermedad renal, enfermedad coronaria o enfermedad cerebrovascular y antecedentes personales como la existencia de cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, enfermedad vascular cerebral, vascular periférica y patología renal. También se debe tener en cuenta la existencia de factores de riesgo cardiovascular asociados (diabetes, dislipemia o tabaquismo) y hábitos con respecto a ingesta de sal, alcohol, actividad física, etc.

### 1.3. TRATAMIENTO

La toma de decisiones terapéuticas en los pacientes hipertensos se realiza considerando no sólo las cifras de presión arterial, sino también la existencia de otros factores de riesgo cardiovascular asociados: diabetes mellitus, presencia y severidad de la afectación cardiovascular y renal, así como de otras patologías asociadas. La decisión es individualizada, valorando el perfil de cada paciente: edad, sexo, raza, hábitos generales, etc.

### **1.3.1. Tratamiento no farmacológico**

Las medidas de estilo de vida se instauran, siempre que sea apropiado, en todos los pacientes, incluidos los que tienen una presión arterial normal alta y los que necesitan tratamiento farmacológico. El objetivo es reducir la presión arterial, controlar otros factores de riesgo y trastornos clínicos, y reducir el número de dosis de fármacos antihipertensivos que luego se podría tener que utilizar. Las medidas de estilo de vida sobre las que hay amplio acuerdo para la reducción de la presión arterial o el riesgo cardiovascular, y que se consideran en todos los pacientes son las siguientes: dejar de fumar, reducción de peso en los individuos con sobrepeso, moderación del consumo de alcohol, la práctica de actividad física, reducción del consumo de sal, aumento del consumo de frutas y verduras y reducción del consumo de grasas saturadas y grasas totales (Dickinson *et al.*, 2006).

Sin embargo, no se ha demostrado que las medidas de estilo de vida prevengan las complicaciones cardiovasculares en los pacientes hipertensos, y su cumplimiento a largo plazo es notoriamente bajo (Haynes *et al.*, 2002). Pero, en ningún caso se debe retrasar innecesariamente la instauración de un tratamiento farmacológico, en especial en los pacientes con un grado de riesgo más elevado.

### **1.3.2. Tratamiento farmacológico**

El tratamiento farmacológico de la HTA ha demostrado ampliamente su eficacia, reduciendo la morbimortalidad en todos los grupos de pacientes hipertensos independientemente de edad, sexo, raza..., disminuyendo los episodios coronarios, la insuficiencia cardíaca, los accidentes cerebrovasculares, el deterioro de la función renal, y la progresión de la HTA (Psaty *et al.*, 1997, Moser *et al.*, 1996, McMahan *et al.*, 1993).

La decisión de iniciar el tratamiento farmacológico de la HTA y la estrategia terapéutica se realiza después de determinar el nivel o cifras de HTA y la consideración de los elementos que condicionan el pronóstico y estratificación de riesgo de los pacientes como existencia de signos o síntomas de enfermedad cardiovascular, la detección de otros factores de riesgo cardiovascular asociados, la realización de pruebas diagnósticas encaminadas a

evaluar la afectación visceral y la presencia de otros factores influyentes. En la mayor parte de los ensayos, la combinación de dos o más fármacos ha sido la pauta de tratamiento más ampliamente utilizada para reducir la presión arterial de manera efectiva.

El gran número de ensayos aleatorizados del tratamiento antihipertensivo, tanto para comparar un tratamiento activo con placebo como para comparar diferentes pautas de tratamiento basadas en compuestos distintos, confirman que los principales efectos beneficiosos del tratamiento antihipertensivo se debe a la reducción de la presión arterial en sí, y son en gran parte independiente de los fármacos utilizados. Los diuréticos tiazídicos, los bloqueadores beta, los antagonistas del calcio, los IECA y los antagonistas de los receptores de la angiotensina pueden reducir suficientemente la presión arterial y causar una disminución de los episodios cardiovasculares. Los bloqueadores alfa, tras los resultados del estudio ALLHAT (Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial) han perdido la consideración de fármaco de primera línea. De todos los ensayos clínicos realizados merecen un comentario especial los resultados del estudio LIFE (Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension Study) y ASCOT (Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial), en los que se vio que las ramas de tratamiento que no incluían un bloqueador beta se acompañaban de un mejor pronóstico cardiovascular (Dahlof *et al.*, 2002, Dahlof *et al.*, 2005). Sin embargo, la administración de bloqueadores beta ha resultado beneficiosa en pacientes con angina de pecho, insuficiencia cardiaca o infarto de miocardio reciente (Freemantle *et al.*, 1999, Shekelle *et al.*, 2003, Heidenreich *et al.*, 1999). Por otra parte, los resultados de los estudios ONTARGET (Ongoing Telmisartan Alone and in Combination with Ramipril Global Endpoint Trial/Telmisartan Randomized Assessment Study in ACE Intolerant Subjects with Cardiovascular Disease) y TRANSCEND (Telmisartan Randomised Assessment Study in ACE iNtolerant subjects with cardiovascular Disease) abrieron un gran debate puesto que la mayor reducción de la presión arterial no se asoció a mayor reducción de eventos (Yusuf *et al.*, 2008a, Yusuf *et al.*, 2008b). Posteriormente se demostró que el mayor beneficio de la reducción de la presión arterial se obtuvo en los sujetos con valores basales más elevados de presión arterial y que el beneficio clínico se debió fundamentalmente a la

reducción de accidentes cerebrovasculares (Sleight *et al.*, 2009). Además, los estudios AVOID (Aliskiren in the Evaluation of Proteinuria in Diabetes) y ALLAY (Aliskiren in Left Ventricular Hypertrophy) suponen una novedad en el tratamiento de la hipertensión arterial, aportando evidencias de la seguridad y eficacia de los inhibidores directos de la renina (Parving *et al.*, 2008, Solomon *et al.*, 2009).

Existen situaciones en las que se requiere un abordaje terapéutico especial, como es el caso de la hipertensión resistente. La hipertensión se define como resistente cuando la presión arterial no disminuye por debajo de 140/90 mm Hg, a pesar de un tratamiento correcto con dosis adecuada (al menos tres fármacos, incluidos los diuréticos) y a pesar de establecer un plan terapéutico en las medidas de estilo de vida. Las principales causas de este tipo de hipertensión son: la mala adhesión al plan terapéutico, falta de modificación del estilo de vida (aumento de peso, consumo de alcohol), consumo continuado de sustancias que elevan la presión arterial (cocaína, antiinflamatorios no esteroideos...) y las lesiones de órganos irreversibles o escasamente reversibles. Ante esta situación, debe considerarse el remitirlos a un especialista o a una unidad hospitalaria de hipertensión, ya que a menudo se asocia con lesiones subclínicas de órganos y con un elevado riesgo cardiovascular adicional (Mancia *et al.*, 2007). Por otra parte, existen las denominadas crisis hipertensivas que se definen como una elevación aguda de la presión arterial y se diferencian en dos entidades: las urgencias (sin daño orgánico secundario y sin riesgo vital inmediato) y las emergencias hipertensivas (con alteraciones en órganos diana que comprometen la vida del paciente de modo inminente).

A pesar de la existencia de fármacos eficaces para el tratamiento de la HTA y de los numerosos programas científicos de formación y actualización, la realidad es que sólo un bajo porcentaje de pacientes están controlados.

#### 1.4. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Solamente una pequeña parte de la población hipertensa presenta únicamente una elevación de la presión arterial, la gran mayoría tiene otros factores de riesgo cardiovascular adicionales (diabetes mellitus, dislipemia,

obesidad, tabaquismo, edad, antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular prematura) (Thomas *et al.*, 2001, Wei *et al.*, 1996, Mancía *et al.*, 2006), con una relación entre la magnitud de la elevación de la presión arterial y la de las alteraciones del metabolismo de la glucosa y los lípidos (Mancía *et al.*, 2005). Además, cuando son simultáneos, la presión arterial y los factores de riesgo metabólicos se potencian entre sí y dan lugar a un riesgo cardiovascular total que es superior a la suma de sus componentes (Kannel 2000).

La frecuente asociación entre HTA y diabetes mellitus ha sido ampliamente descrita. En concreto, la diabetes mellitus tipo II presenta una prevalencia de hipertensión de un 70-80% (Kannel *et al.*, 1991). Se ha establecido claramente que la concomitancia de hipertensión y diabetes mellitus incrementa sustancialmente el riesgo de que se desarrollen lesiones renales y de otros órganos diana, con lo que aumenta en gran manera la incidencia de ictus, enfermedad coronaria, insuficiencia cardiaca congestiva, enfermedad arterial periférica y mortalidad cardiovascular (Stamler *et al.*, 1993). Además, la interrelación con la obesidad u otras situaciones de riesgo, como las alteraciones del metabolismo de la glucosa, hacen pensar que la base de esta asociación epidemiológica podría responder a vínculos fisiopatológicos comunes.

La obesidad se considera el principal factor responsable del incremento de la presión arterial. En el estudio Framingham se estimó que un aumento de peso del 10% se asocia con un incremento de 6,5 mm Hg de presión arterial sistólica (Ashley *et al.*, 1974). La obesidad también está asociada con hipertrofia del ventrículo izquierdo, hiperlipidemia y aterosclerosis. El mecanismo a través del cual la obesidad provoca una elevación de la presión arterial no está completamente esclarecido, pero se ha visto que el incremento del índice de masa corporal está asociado con un incremento del volumen plasmático y del gasto cardiaco (Rocchini *et al.*, 1989).

Por otra parte, el síndrome metabólico es una asociación de factores de riesgo cardiovascular que incluye trastornos caracterizados por diversas combinaciones de anomalías del metabolismo de la glucosa, del metabolismo de los lípidos y de la presión arterial (Reaven *et al.*, 1998). Los individuos con síndrome metabólico presentan también mayores prevalencias de microalbuminuria, hipertrofia ventricular izquierda y rigidez arterial, en

comparación con los que no presentan este síndrome. Su riesgo cardiovascular es alto, así como la probabilidad de presentar diabetes. Así que en los pacientes hipertensos con síndrome metabólico, los métodos diagnósticos deben ser más amplios que los habituales, dada la mayor prevalencia de lesiones de múltiples órganos.

Las guías de las Sociedades Europeas de Cardiología incluyen una propuesta de estratificación del riesgo basado, por un lado, en las cifras de presión arterial y, por otro, en la presencia de otros factores de riesgo cardiovascular, lesión de órgano diana y enfermedad cardiovascular clínica (Tabla 2).

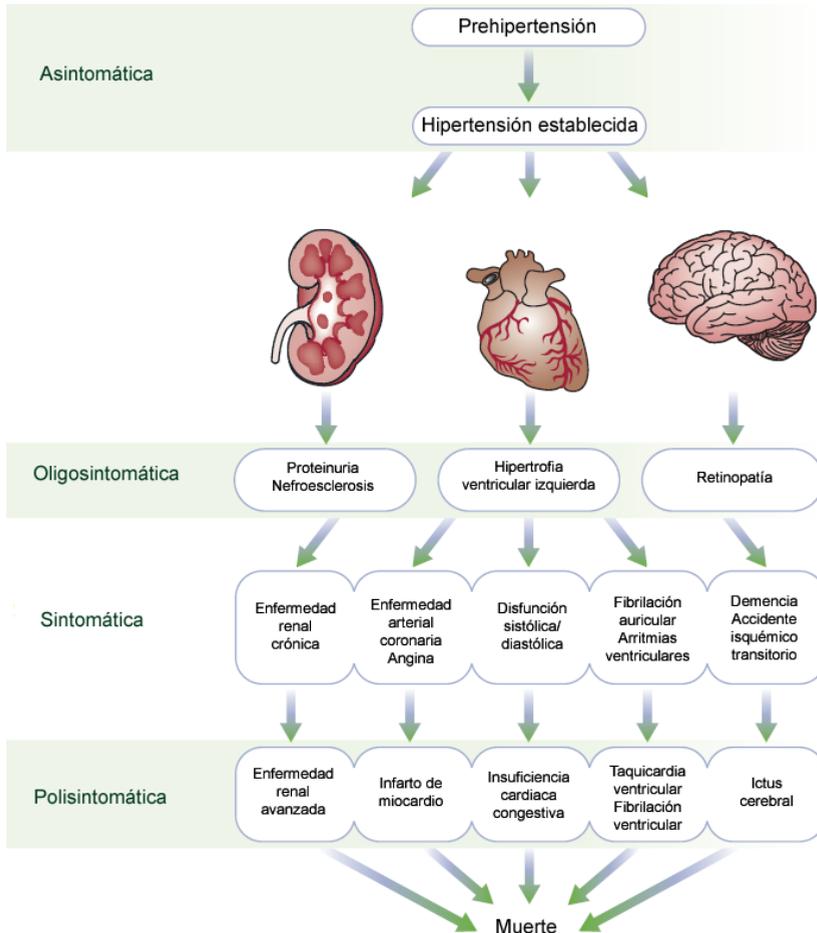
Tabla 2. Estratificación del riesgo cardiovascular en cuatro categorías.

Presión arterial (mmHg)					
Otros factores de riesgo, LO o enfermedad	Normal PAS 120-129 o PAD 80-84	Normal alta PAS 130-139 o PAD 85-89	HT grado 1 PAS 140-159 o PAD 90-99	HT grado 2 PAS 160-179 o PAD 100-109	HT grado 3 PAS $\geq$ 180 o PAD $\geq$ 110
Sin otros factores de riesgo	Riesgo medio	Riesgo medio	Riesgo adicional bajo	Riesgo adicional moderado	Riesgo adicional alto
1-2 factores de riesgo	Riesgo adicional bajo	Riesgo adicional bajo	Riesgo adicional moderado	Riesgo adicional moderado	Riesgo adicional muy alto
3 o más factores de riesgo, SM, LO o diabetes	Riesgo adicional moderado	Riesgo adicional alto	Riesgo adicional alto	Riesgo adicional alto	Riesgo adicional muy alto
Enfermedad cardiovascular o renal establecida	Riesgo adicional muy alto	Riesgo adicional muy alto	Riesgo adicional muy alto	Riesgo adicional muy alto	Riesgo adicional muy alto

El riesgo bajo, moderado, alto y muy alto hace referencia al riesgo a 10 años de un episodio cardiovascular mortal o no mortal. El término «adicional» indica que en todas las categorías el riesgo es superior al medio. La línea a trazos indica la manera en la que puede variar la definición de la hipertensión en función del grado de riesgo cardiovascular total. CV: cardiovascular; HT: hipertensión; LO: lesión subclínica de órganos; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; SM: síndrome metabólico. (Extraída de Mancia et al. Guías de práctica clínica para el tratamiento de la hipertensión arterial 2007. Rev Esp Cardiol 2007;60:968.e1-e94)

Dada la importancia de las lesiones subclínicas en órganos como estadio intermedio del espectro continuo de la enfermedad vascular y como determinante del riesgo cardiovascular general; los signos de afectación de órganos deben ser objeto de una búsqueda cuidadosa. El cerebro, el riñón y el corazón son los órganos diana que se pueden ver dañados por la presencia de

HTA (Rosendorff *et al.*, 2007, Fang *et al.*, 2006, Messerli *et al.*, 2007, Weitzman *et al.*, 2006), es decir la hipertensión no controlada incrementa el riesgo de eventos renales, cerebrales y cardiacos (Fig. 1).



**Figura 1.** Lesión en órganos diana como consecuencia de la hipertensión.  
(Modificada de Franz H Messerli *et al.* *Essential Hypertension. Lancet* 2007;370:591-603)

El deterioro de la función renal en los pacientes con hipertensión es frecuente, constituye un predictor muy potente de los futuros episodios cardiovasculares y de muerte (De Leuw *et al.*, 2004, Zanchetti *et al.*, 2001, Ruilope *et al.*, 2001, De Leuw *et al.*, 2002, Segura *et al.*, 2004). Por otra parte,

varios estudios han demostrado que los infartos cerebrales asintomáticos pequeños, detectados mediante resonancia magnética, las microhemorragias y las lesiones de la sustancia blanca, no son infrecuentes en la población general (Vermeer *et al.*, 2002, Longstreth *et al.*, 1996); su prevalencia aumenta con la edad y la hipertensión, y se asocia a un aumento del riesgo de ictus, declive cognitivo y demencia (Longstreth *et al.*, 1996, Prins *et al.*, 2004, Vermeer *et al.*, 2000).

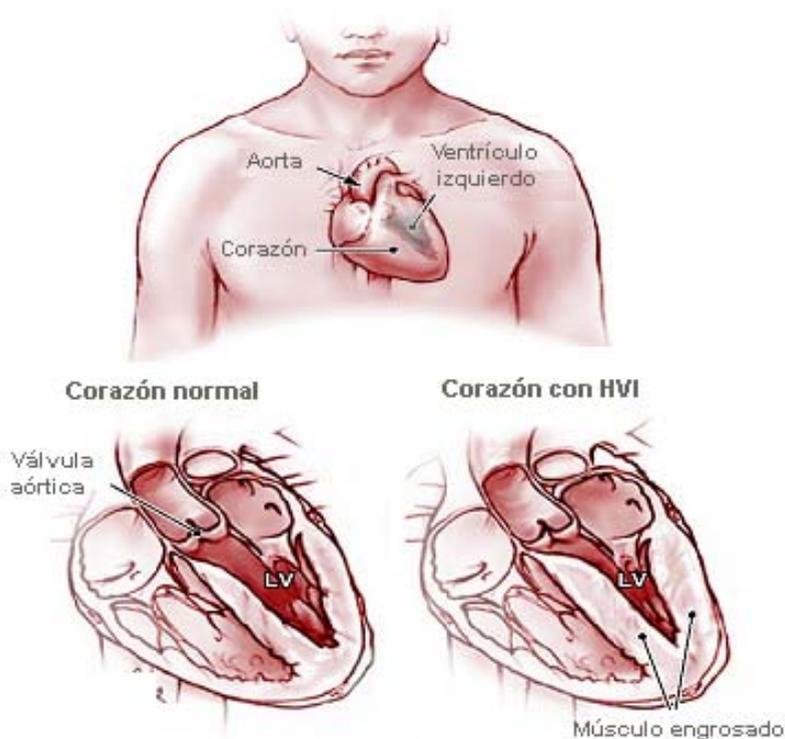
Sin embargo, una de las manifestaciones más precoces de repercusión cardíaca en el paciente con hipertensión arterial es la presencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI). Se ha visto que está asociada con un alto riesgo de arritmias cardíacas y de muerte súbita, y que predice el desarrollo de insuficiencia cardíaca (Levy *et al.*, 1989, Levy *et al.*, 1990, Ghali *et al.*, 1998) El factor principal responsable del desarrollo de HVI parece ser el estrés mecánico sobre la pared del corazón, generado por la hipertensión y por sus consecuencias inmediatas sobre los vasos sanguíneos (que acentúan la carga de trabajo para el miocardio). Además, la masa del ventrículo izquierdo es un potente predictor de morbilidad cardiovascular en pacientes hipertensos asintomáticos (Verdecchia *et al.*, 2001).

## 1.5. REPERCUSIONES CARDIACAS

### 1.5.1. **Hipertrofia ventricular izquierda**

La hipertrofia ventricular izquierda (HVI) puede ser definida como el aumento individual de la masa del miocito cardíaco que trae como consecuencia un incremento en tamaño y peso del órgano (Fig. 2). Es un mecanismo adaptativo que utiliza el corazón para ajustar su masa a la carga hemodinámica. El miocito modifica su tamaño y su forma de acuerdo con el estímulo que recibe y así, la sobrecarga de volumen determina un mayor crecimiento en longitud del miocito, mientras que la sobrecarga de presión genera una mayor modificación en su anchura. Se trata de una compensación fisiológica inicialmente necesaria y protectora, pero como consecuencia de ésta aparecerá una disfunción miocárdica.

Los modelos experimentales coinciden en señalar que no aparecen señales de mitosis en corazones adultos hipertrofiados, en consecuencia, el crecimiento cardíaco se realiza únicamente a través del aumento de la matriz extracelular (Pelouch *et al.*, 1994) y de la hipertrofia de los miocitos existentes (Page *et al.*, 1973). Estos procesos, están asociados con una pérdida de miocitos cardíacos atribuida tradicionalmente a necrosis (Capasso *et al.*, 1990), sin embargo, se ha visto que esta muerte celular puede producirse también a través del proceso de apoptosis (Teiger *et al.*, 1996). Así que, en el miocardio hipertrófico se produce un remodelado de la arquitectura tisular con predominio de bandas fibrosas con alto contenido de colágeno. En este entorno se dificulta la propagación del impulso cardíaco y la difusión de oxígeno y de otros nutrientes, generándose un déficit energético progresivo.



**Figura 2.** Comparación entre un ventrículo izquierdo normal y un ventrículo izquierdo con hipertrofia (Modificada de Janet *et al.* *Left ventricular hypertrophy.* *JAMA* 2004;292:2430).

La HVI puede acompañar al desarrollo de aterosclerosis en las arterias coronarias, y el aumento de la demanda y la disminución del aporte sanguíneo provoca mayor isquemia miocárdica, con el consiguiente incremento en la incidencia de angina, infarto, muerte súbita, arritmias e insuficiencia cardíaca. Su prevalencia en la hipertensión varía ampliamente, desde el 20 al 49%, dependiendo de las diferentes condiciones hemodinámicas y demográficas de las poblaciones (Asín Cardiel *et al.*, 1996). Se trata de una de las alteraciones cardiovasculares más precoces que produce la HTA y además, proporciona una información pronóstica muy valiosa ya que predice la enfermedad cardiovascular y cerebrovascular (Verdecchia *et al.*, 1998, Levy *et al.*, 1994).

Existen diferentes patrones de HVI, con importantes implicaciones pronósticas (Ganau *et al.*, 1992). Estudios prospectivos demostraron una mayor mortalidad de todas las causas en aquellos pacientes con hipertrofia concéntrica en comparación con otros patrones (Koren *et al.*, 1991, Krumholz *et al.*, 1995, Ghali *et al.*, 1998). De todos modos, el grado de aumento de la masa miocárdica (sin tenerse en cuenta el patrón de hipertrofia) se ha mostrado como un factor de riesgo independiente para una mayor mortalidad cardíaca (Levy *et al.*, 1990).

El electrocardiograma es una técnica diagnóstica clásica y específica para el diagnóstico de HVI, sin embargo existen algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de utilizarlo. Es muy específico para la detección de aumento de la masa ventricular izquierda, pero su sensibilidad es baja, ya que no todas las hipertrofias pueden ser detectadas (Alfakih *et al.*, 2006). La ecocardiografía es más sensible que el electrocardiograma para diagnosticar la hipertrofia ventricular izquierda (Reichek *et al.*, 1981). La aparición del ecocardiograma como método de evaluación no invasiva aumentó las cifras de prevalencia, dada la capacidad de esta técnica de detectar pequeñas variaciones en la masa ventricular (Desimone *et al.*, 1999). Sin embargo, la medición más precisa es la proporcionada por la resonancia magnética, pero su coste impide su uso a gran escala (Myerson *et al.*, 2002).

Aunque la relación entre el índice de masa ventricular izquierda y el riesgo cardiovascular es continua, se utilizan ampliamente diferentes umbrales para el diagnóstico de HVI. Los valores normales de masa ventricular izquierda difieren entre hombres y mujeres, incluso cuando se realiza una indexación por

la superficie corporal o por la altura. Aunque el índice por la superficie corporal ha sido el más utilizado en los ensayos clínicos (considerándose hipertrofia a partir de 104 g/m<sup>2</sup> en mujeres y a partir de 116 g/m<sup>2</sup> en varones), se ha visto que este método subestima la prevalencia de hipertrofia en individuos obesos, en los cuales la masa ventricular debe ajustarse por la altura elevada a 2,7 (considerándose hipertrofia a partir de 46,7 g/m<sup>2,7</sup> en mujeres y a partir de 49,2 g/m<sup>2,7</sup> en varones) (Lang *et al.*, 2005). El mejor método para normalizar las medidas de la masa ventricular sigue bajo debate, es decir, no existe un consenso definitivo para la indexación de la masa ventricular.

### **1.5.2. Fibrosis miocárdica**

Los miocitos y los fibroblastos están ubicados en la matriz extracelular, la cual está compuesta por una red de fibras macromoleculares. Los fibroblastos presentes en el intersticio miocárdico y los cardiomiocitos transformados en miofibroblastos secretan al espacio extracelular moléculas de colágeno que son sometidas a un proceso de proteólisis que las convertirá en moléculas estables capaces de formar fibras. Estas moléculas interactúan entre sí a lo largo de un proceso de polimerización, que implica la formación de enlaces covalentes entre moléculas adyacentes y que acabará conduciendo a la formación de la fibra definitiva (Nimmi 1993). La vida media de estas fibras es de aproximadamente 100-110 días, posteriormente son hidrolizadas, en dos péptidos por metaloproteinasas de matriz (MMP). En condiciones normales, estas enzimas se hallan en su mayoría (98%) inhibidas en el intersticio, por unos compuestos endógenos denominados inhibidores tisulares de las metaloproteinasas de matriz (TIMP) (Janicki 1995). Alteraciones en la síntesis y degradación de colágeno pueden llevar a fibrosis cardíaca (Zannad *et al.*, 2010).

El diagnóstico de la fibrosis miocárdica es básicamente histológico, pero dadas las complicaciones técnicas y los riesgos del procedimiento, así como el gran número de sujetos susceptibles de ser sometidos a la misma, es preciso desarrollar métodos alternativos no invasivos. Así que, dos son los métodos que se desarrollan en la actualidad: a) un método ecocardiográfico que permite discriminar la textura del tejido miocárdico (Ciulla *et al.*, 1997) y b) un método bioquímico que determina en sangre la presencia de marcadores de la síntesis y degradación del colágeno tipo I y tipo III (Díez *et al.*, 1995a, Díez y

Laviades 1997). Hasta la fecha, la medición más precisa de la constitución del tejido cardíaco es la proporcionada por la resonancia magnética.

Los colágenos tipos I y III son los más abundantes en el miocardio. El colágeno tipo I es poco específico, pero representa la mayor proporción de colágeno cardíaco (85%), sin embargo el colágeno III es menos abundante pero más específico del corazón (Bishop y Laurent 1995, Zannad *et al.*, 2001, D'Armiento 2002). Durante la conversión del procolágeno tipo I en colágeno tipo I, una endopeptidasa C-terminal específica hidroliza un péptido de 100 kDa del extremo C-terminal (PICP). Por cada molécula de procolágeno tipo I convertida en molécula de colágeno tipo I se forma una molécula de PICP que pasa a la sangre. De la misma manera el extremo N-terminal del procolágeno tipo I (PINP) también se hidroliza por una colagenasa específica y se libera al torrente circulatorio. Análogamente, durante la conversión del procolágeno tipo III en colágeno tipo III, una endopeptidasa N-terminal específica hidroliza un péptido de 30 kDa del extremo N-terminal que pasará también a la sangre con una estequiometría 1:1 (PIIINP).

Diversos estudios han sugerido que la combinación de la sobrecarga hemodinámica hipertensiva con la activación local de ciertos mecanismos, como hormonas, factores de crecimiento, citocinas e integrinas, promueve la fibrosis miocárdica hipertensiva (Kuwahara *et al.*, 2004). Además, se ha demostrado *in vivo* que la interacción directa de la angiotensina II con sus receptores AT<sub>1</sub> presentes en los fibroblastos miocárdicos estimula la síntesis e inhibe la degradación de las fibras de colágeno tipo I y tipo III en el ventrículo izquierdo de ratas con hipertensión espontánea (Varó *et al.*, 1999).

Existen numerosas evidencias de un incremento en la síntesis de colágeno y disminución de su degradación, en pacientes con hipertensión (Díez *et al.*, 1995b, Laviades *et al.*, 1998). Además, se ha sugerido que una excesiva deposición de colágeno causa rigidez del corazón durante la fase crónica de hipertrofia, especialmente durante la transición a insuficiencia cardíaca, y como consecuencia se ve alterada la función cardíaca. En un estudio en el que se examinó la fibrosis miocárdica en relación a la presión sanguínea, la masa ventricular izquierda y la función diastólica; se observó que un marcador de fibrosis (PICP) estaba elevado y la función diastólica alterada, con respecto a un grupo de normotensos, y que la diferencia era mínima entre pacientes con y

sin HVI. Además, este marcador de fibrosis no correlacionó con la masa del ventrículo izquierdo, concluyéndose que los marcadores de fibrosis miocárdica están elevados en la hipertensión antes del desarrollo de hipertrofia (Müller-Brunotte *et al.*, 2007).

### **1.5.3. Cambios en la función ventricular izquierda**

Antes de que aparezca la hipertrofia del ventrículo izquierdo pueden apreciarse cambios tanto en la función diastólica como en la sistólica. Inicialmente ya existe una mayor contractilidad, pese a presentar una masa miocárdica todavía en los límites altos de la normalidad, hecho que se explica por un gran estado inotrópico, con una fracción de acortamiento aumentada y un estrés parietal importante.

Diversos estudios han mostrado que en la hipertensión, la disfunción diastólica precede a la reducción en la fracción de eyección del ventrículo izquierdo o al gasto cardíaco (Fouad *et al.*, 1984, Inouye *et al.*, 1984). El cambio funcional más temprano, es la alteración de la función diastólica, con prolongación e incoordinación de la relajación isovolumétrica, disminución de la efectividad de las fases de llenado rápido, y aumento en la amplitud relativa de la onda A del pulso venoso, representativa del esfuerzo al que se somete la aurícula para llenar un ventrículo rígido y poco distensible. A lo largo de la evolución de la hipertensión se asociará un deterioro más o menos pronunciado en la función sistólica (Guindo Soldevilla 2004).

## **1.6. FISIOPATOLOGÍA**

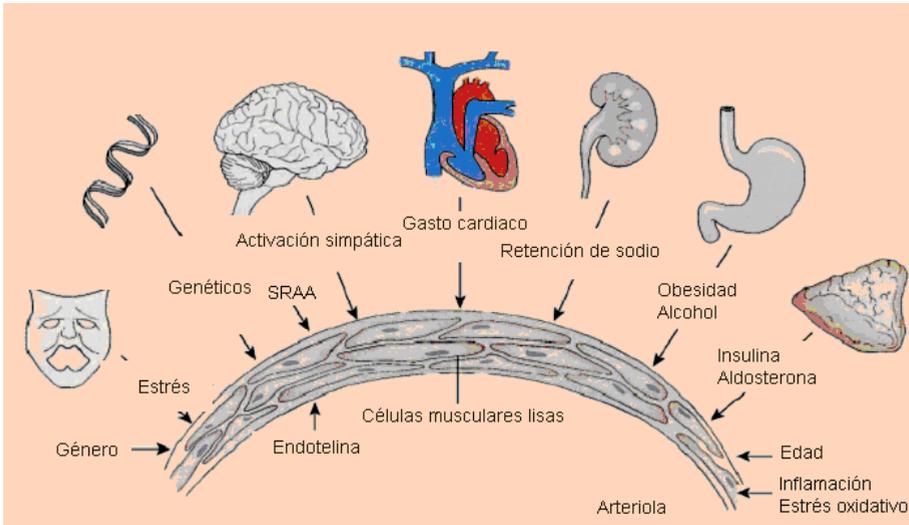
Resulta difícil comprender la fisiopatología de una enfermedad en la cual se desconoce su etiología (no tiene una causa única conocida), y en la que los mecanismos responsables de su desarrollo no están totalmente esclarecidos. El sistema circulatorio humano es una intrincada red de mecanismos destinados a mantener la homeostasis de presión y flujo pese a las diferentes perturbaciones, por tanto, una elevación constante de la presión arterial puede provocar un trastorno en las interrelaciones de los factores que mantienen este equilibrio.

La presión arterial es el producto del gasto cardiaco y la resistencia vascular periférica. Cada uno de ellos depende de diferentes factores como son, en el caso del gasto cardiaco, la volemia, la contractilidad miocárdica y la frecuencia cardiaca. La vasoconstricción funcional y/o estructural de las arterias de mediano calibre (arterias de resistencia) determina el incremento de las resistencias periféricas. Estos cambios son los principales responsables de la elevación de las resistencias sistémicas que determinan la elevación de la presión arterial diastólica.

La característica hemodinámica fundamental de la hipertensión esencial es el aumento persistente de la resistencia vascular, que se puede alcanzar a través de diferentes vías. Estas pueden converger tanto en el engrosamiento estructural de la pared como en la vasoconstricción funcional. Los cambios en el gasto cardiaco y resistencias periféricas dependen de la interacción de diversos sistemas que actúan interrelacionados entre sí. Mientras unos tienden a elevar los niveles de presión arterial (actividad adrenérgica, sistema renina-angiotensina, prostaglandinas vasoconstrictoras, endotelinas...) otros tienden a disminuirlos (óxido nítrico, prostaglandinas vasodilatadoras, bradiquininas...). Por otra parte, la reducción de la distensibilidad de las grandes arterias es el principal responsable de la elevación exclusiva de la tensión arterial sistólica, con cifras normales de diastólica, denominada *hipertensión sistólica aislada*, poderoso factor de riesgo cardiovascular. Se trata de un proceso patológico frecuente en ancianos y guarda una relación directa con el envejecimiento cardiovascular, en el cual se producen cambios en la composición proteica de la pared vascular que limitan su capacidad para adaptarse a los cambios en el volumen sanguíneo.

La interacción entre variaciones genéticas y factores ambientales tales como el estrés, la dieta y la falta de actividad física, contribuyen al desarrollo de la hipertensión arterial esencial. Son muchos los factores fisiopatológicos que han sido considerados en la génesis de la hipertensión esencial, algunos de los más estudiados son: el incremento en la actividad del sistema nervioso simpático, la sobreproducción de hormonas vasoconstrictoras, la alta ingesta de sodio, el incremento en la secreción de renina y como consecuencia mayor producción de angiotensina II y aldosterona, la deficiencia de vasodilatadores,

la inflamación, la diabetes mellitus, la resistencia a la insulina y la obesidad (Oparil *et al.*, 2003) (Fig. 3).



**Figura 3.** Principales mecanismos fisiopatológicos de la hipertensión arterial. SRAA: sistema renina-angiotensina-aldosterona. (Modificada de Oparil *et al.* *Pathogenesis of hypertension. Ann Intern Med.* 2003; 139:761-776).

El sistema nervioso simpático es un mediador clave de los cambios agudos en la presión arterial y en la frecuencia cardíaca. Los barorreceptores de alta y baja presión participan en la regulación de la presión arterial, envían sus señales hasta el centro vasomotor que, a su vez, a través de los nervios parasimpáticos y simpáticos actúa sobre el corazón y el árbol vascular. La mayor liberación de adrenalina y noradrenalina en individuos con hipertensión esencial provoca de forma secuencial aumento de secreción de renina, en primer lugar, luego disminuye la excreción de sodio urinario al aumentar la reabsorción tubular y, finalmente, disminuye el flujo sanguíneo renal y la tasa de filtrado glomerular, favoreciendo de esta manera la expansión volumétrica. (Rumantir *et al.*, 2000, Julius 1988, Guyton 1992, Hall *et al.*, 1996). Así que, la hipertensión arterial parece comenzar como un síndrome con gasto cardíaco elevado debido a hiperactividad de las terminaciones simpáticas cardíacas. Esta fase hiperdinámica condiciona cambios vasculares (vasoconstricción, reducción de la luz arteriolar e incremento de su espesor parietal) que determinan un aumento de las resistencias vasculares. De esta forma, el sistema nervioso

simpático, no sólo ejercería un papel en el inicio de la hipertensión, sino que estaría implicado en los cambios estructurales y funcionales vasculares que determinan el incremento de las resistencias sistémicas.

La activación adrenérgica a través de la activación de los receptores B1, estimula la liberación de renina y la síntesis de angiotensina y aldosterona. Este sistema hormonal ayuda a regular a largo plazo la presión sanguínea y el volumen extracelular corporal (Hall *et al.*, 1999). La renina es secretada por las células yuxtaglomerulares en el túbulo contorneado distal de las nefronas renales. Esta enzima cataliza la conversión del angiotensinógeno (proteína secretada en el hígado) en angiotensina I que, por acción de la enzima convertidora de angiotensina (ECA), la cual es secretada por las células endoteliales de los pulmones, es convertida en el vasoconstrictor más potente del organismo: la angiotensina II. Además, estimula la secreción de vasopresina por la neurohipófisis, la cual estimula la reabsorción a nivel renal de agua y produce la sensación de sed; y de la hormona aldosterona (en las glándulas suprarrenales) con lo que produce la reabsorción de sodio a nivel renal. Además, la angiotensina II incrementa la descarga simpática y la liberación de catecolaminas, es decir, hay un *feed-back* positivo del sistema nervioso simpático y el sistema renina angiotensina aldosterona, se cierra así un círculo vicioso que perpetua el aumento de las resistencias periféricas.

La hipertensión arterial provoca un estrés hemodinámico que puede provocar cambios en la función y estructura del endotelio, ya que las células endoteliales son sensibles a las condiciones físicas y químicas del ambiente que les rodea. El sistema arterial posee diversas funciones tanto a nivel hemodinámico como neurohormonal. El endotelio vascular tiene una importante función endocrina, tanto local como sistémica, siendo considerado un verdadero órgano de regulación, implicado en procesos vasoactivos, metabólicos e inmunes, a través de la síntesis y liberación de numerosos agentes como el óxido nítrico y la endotelina, factores de crecimiento, moléculas de adhesión de leucocitos, péptidos natriuréticos, citocinas inflamatorias, especies reactivas del oxígeno, factores que intervienen en la coagulación o factores reguladores de la fibrinólisis (Cardillo *et al.*, 1998, Cosentino *et al.*, 2001, Forte *et al.*, 1997, Haynes *et al.*, 1994, Liu *et al.*, 1996).

Anormalidades funcionales y estructurales como la remodelación vascular, la disfunción endotelial, el incremento del estrés oxidativo y la inflamación pueden anteceder a la HTA. Sin embargo, parece evidente que una elevada tensión arterial activa una verdadera cascada de diferentes mediadores como los factores inflamatorios (Barbieri *et al* 2003) y de estrés oxidativo (Redón *et al.*, 2003). Es decir, parece ser que se trata de un círculo vicioso en el cual el incremento de la presión sanguínea causa inflamación crónica y estrés oxidativo en el endotelio y este daño a su vez provoca un peor control de la tensión arterial.

---

## 2. PÉPTIDOS NATRIURÉTICOS

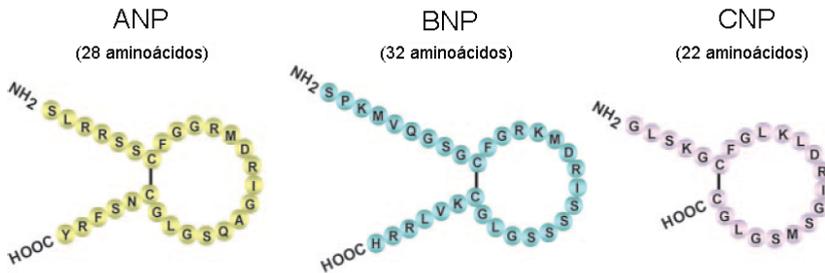
### 2.1. TIPOS

En 1981, Adolfo de Bold y col, homogenizaron extractos de aurícula y ventrículo de ratas y los inyectaron vía intravenosa en animales anestesiados, produciendo un aumento en el volumen de orina (diuresis) y en la excreción de sodio (natriuresis). Este hecho llevó al aislamiento y clonación del péptido natriurético auricular (ANP), el primer miembro de una familia de péptidos con una potente actividad natriurética, diurética y vasorelajante, denominados péptidos natriuréticos (PN).

Actualmente hay descritos cuatro PN: 1) péptido tipo A o péptido natriurético auricular (ANP); 2) péptido tipo B o péptido natriurético cerebral (BNP, llamado así porque fue aislado por primera vez en el cerebro porcino), (Sudoh *et al.*, 1988); 3) péptido natriurético C (CNP), producido y secretado principalmente por las células endoteliales y también a nivel del sistema nervioso central (Sudoh *et al.*, 1990); y 4) “péptido natriurético dendroaspis” (DNP), aislado del veneno de la “mamba verde” (*Dendroaspis angusticeps*), que ha sido identificado también en el plasma de mamíferos, sin embargo su origen y relevancia patofisiológica no están determinados (Richards *et al.*, 2002).

La estructura peptídica de los PN se caracteriza por un anillo de 17 residuos cerrado por un puente bisulfuro intramolecular, entre dos residuos de cisteína. La secuencia de aminoácidos de este anillo es muy similar entre los distintos PN y también está altamente preservada entre las diferentes especies animales; esta es la parte que se une al receptor específico (Martínez-Rumayor *et al.*, 2008). Sin embargo, las cadenas de aminoácidos amino y carboxi terminales tienen un alto grado de variabilidad entre los PN, no sólo en cuanto a su longitud, sino también por el tipo de residuos que componen las cadenas. Los miembros de la familia de PN que tienen relevancia en el contexto de las enfermedades cardiovasculares son: ANP, BNP y CNP. Concretamente el BNP y sus moléculas relacionadas, tienen un poder diagnóstico y pronóstico más sensible y exacto. El ANP es un polipéptido de 28 aminoácidos, el BNP de 32 aminoácidos y el CNP de 22 aminoácidos (Fig. 4) Otra característica bioquímica de la familia de los PN es que son producidos como prohormonas,

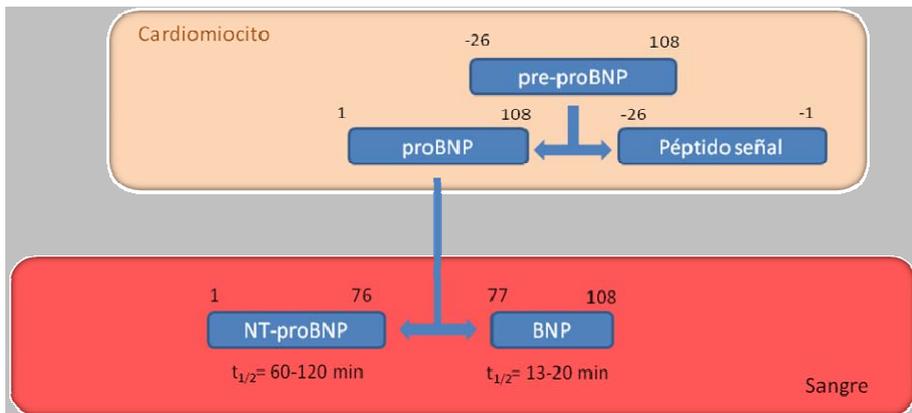
codificadas en genes separados para cada uno de los péptidos y además, su distribución en los tejidos y su regulación, son diferentes para cada uno de ellos.



**Figura 4.** Estructura primaria de los péptidos natriuréticos humanos. ANP: péptido natriurético tipo A, BNP: péptido natriurético tipo B, CNP: péptido natriurético tipo C. (Modificada de Gardner *et al.* *Molecular biology of the natriuretic peptide system: Implications for physiology and hypertension.* *Hypertension* 2007; 49:419-426).

El péptido natriurético cerebral (BNP) humano es codificado por un gen de copia única constituido por 3 exones y 2 intrones. Su ARNm contiene cuatro secuencias repetidas de AUUUA dentro de la región 3' que se cree confiere la estabilidad. Las secuencias del precursor en los mamíferos ha derivado de una secuencia de cADN que codifica toda la molécula preproBNP (Maekawa *et al.*, 1988). Ésta además de contener al proBNP (108 aminoácidos) contiene un péptido señal N-terminal de 26 aminoácidos hidrofóbico, que se elimina cotraduccionalmente durante la síntesis proteica, y antes de que termine la síntesis de la parte carboxi terminal de la prohormona, en el retículo endoplásmico rugoso (Goetze 2004). El BNP es producido por los cardiomiocitos como una prohormona de 108 aminoácidos (proBNP), el cual es dividido proteolíticamente en las posiciones 73-76 (Arginina-Alanina-Prolina-Arginina), dando dos regiones equimolares: un fragmento amino terminal 1-76 (NT-proBNP), y un extremo carboxi terminal 77-108 (BNP), que se corresponde con la molécula biológicamente activa (de Lemos *et al.*, 2003) (Fig. 5). Todavía se debate cuándo y dónde la prohormona es dividida, ya que

pequeñas concentraciones de la molécula intacta de proBNP han sido encontradas en el suero, y tanto BNP como NT-proBNP han sido determinados en extractos celulares (Hunt *et al.*, 1997), sin embargo, la mayoría de proBNP es procesado antes de alcanzar la circulación sanguínea. En un principio se estableció que la proteasa que escinde a la molécula de proBNP para dar las dos regiones, era la endoproteasa furina (Sawada *et al.*, 1997). Recientemente, una nueva proteasa llamada corina ha sido identificada en el corazón humano, la cual posee un dominio transmembrana, y se ha comprobado que puede escindir tanto a la molécula de proANP como proBNP *in vitro* (Goetze 2004). Este hecho sugiere que el propéptido es dividido principalmente dentro o en la superficie de la membrana de los cardiomiocitos.



**Figura 5.** NT-proBNP y BNP: ambas moléculas derivan del mismo precursor intracelular de 108 aminoácidos (proBNP), el cual es escindido por acción de una proteasa en dos fragmentos amino y carboxi terminal. (Modificada de [http://www.rochediagnostics.es/productos\\_servicios/02010202.html](http://www.rochediagnostics.es/productos_servicios/02010202.html))

Tanto la molécula intacta proBNP, como BNP y NT-proBNP circulan en plasma y pueden ser analizamos mediante inmunoensayos. En sujetos normales las concentraciones plasmáticas de NT-proBNP y BNP son similares, ambas moléculas son liberadas continuamente por el corazón y detectadas en el

torrente sanguíneo a concentraciones muy bajas (picomolar); la vida media en sangre para BNP es de 13-20 minutos y 120 minutos para NT-proBNP (Mair *et al.*, 1999). Sin embargo, en pacientes con disfunción ventricular los niveles séricos de NT-proBNP aumentan de 2 a 10 veces más que los de BNP, quizás por cambios a nivel de secreción y/o a los mecanismos de aclaramiento (Smith *et al.*, 2000).

La expresión de BNP, en el corazón sano, ocurre principalmente en la aurícula (de Bold *et al.*, 2001). Sin embargo, la síntesis de BNP a nivel ventricular está estimulada en las patologías que afectan a los ventrículos, produciendo una sobrecarga ventricular prolongada que conduce a un estrés de pared, como es el caso de la IC (Mukoyama *et al.*, 1990). También se ha visto que existen otras células dentro del corazón que producen y liberan BNP, los fibroblastos (Tsuruda *et al.*, 2002) y los vasos del seno coronario, al menos en la aterosclerosis coronaria (Casco *et al.*, 2002). El alargamiento de la pared es el estímulo predominante que controla de forma directa o a través de factores paracrinos su liberación desde la aurícula y ventrículos (Harada *et al.*, 1998). Mientras el ANP es principalmente liberado por un aumento en la presión transmural auricular, el BNP es regulado tanto por la presión como por la sobrecarga de volumen. Otros estímulos como taquicardia, hipertrofia y fibrosis, inducen también la producción de BNP (Riddervold *et al.*, 1991, Sakata *et al.*, 2001, Walther *et al.*, 2003).

Por otra parte, diversos estudios experimentales y ensayos clínicos han demostrado que la síntesis de PN no está solamente influenciada por cambios hemodinámicos que conducen a un alargamiento ventricular y/o un aumento del estrés de pared ventricular, sino también por complejas interacciones entre el sistema neuroendocrino (catecolaminas, endotelinas y angiotensina II) e inmune (factor de necrosis tumoral-alfa, interleucina-1 e interleucina-6), los cuales activan la síntesis y secreción de PN (Leskinen *et al.*, 1997, Ma *et al.*, 2004, Emdin 2004). Sin embargo, la respuesta del sistema de PN a la activación neuroendocrina e inmune no es lineal, por lo que pequeños cambios hemodinámicos, difícilmente detectables mediante métodos de diagnóstico estándares, pueden producir cambios significativos en los niveles de BNP.

Además, se han encontrado niveles elevados de PN en algunas condiciones fisiológicas (embarazo, hipertiroidismo y ejercicio físico) y

terapéuticas (hormonas sexuales esteroideas, glucocorticoides, hormonas tiroideas, factores de crecimiento, bloqueadores beta, digoxina...) (Tsutamoto *et al.*, 1997, Rodríguez *et al.*, 2003, Yoshizawa *et al.*, 2004), donde el rendimiento cardíaco se mantiene dentro de un rango normal o ligeramente aumentado. Además, enfermedades como cirrosis hepática y enfermedad pulmonar o renal, muestran niveles séricos alterados de BNP y NT-proBNP (McCullough *et al.*, 2003, Clerico & Emdin 2004).

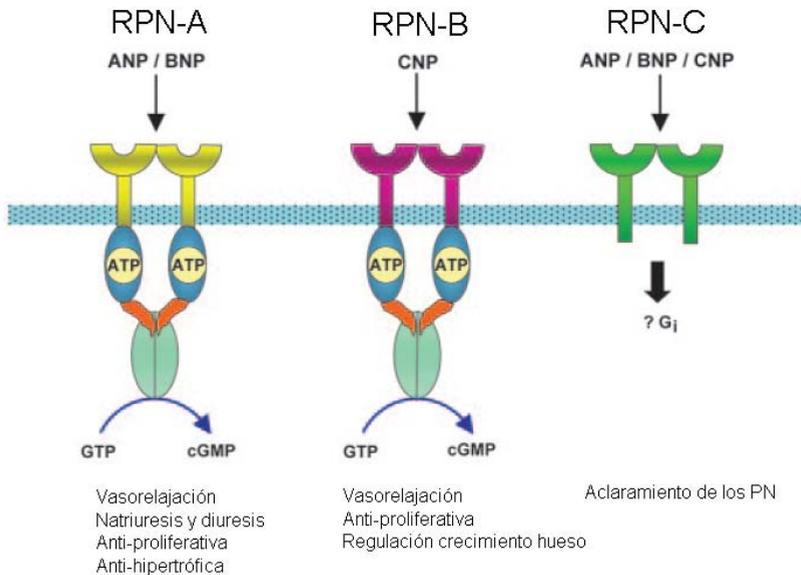
## 2.2. RECEPTORES CELULARES Y ACLARAMIENTO

Se conocen tres tipos diferentes de receptores de superficie de membrana celular (RPN), llamados RPN-A, RPN-B y RPN-C, y que median los efectos fisiológicos de los péptidos natriuréticos. Cada uno de estos tres receptores contienen una guanilato ciclasa con un dominio de unión extracelular, una región transmembrana y un dominio intracelular que contiene la región catalítica en su terminal carboxilo (Hirose *et al.*, 2001).

Los receptores RPN-A y RPN-B presentan un 44% de homología en sus dominios extracelulares (Koller & Goeddel 1992). Aunque ambos receptores se encuentran en el riñón y glándula adrenal, el RPN-A es más abundante en el endotelio de los grandes vasos sanguíneos, mientras que el RPN-B predomina en el cerebro, en concreto en la glándula pituitaria (Levin *et al.*, 1998). Tanto el ANP como el BNP se unen principalmente al receptor RPN-A que dimeriza y usa un ión cloruro para dar lugar a su conformación “abierta”. Estos receptores están unidos a una cascada de señalización dependiente de guanosin monofosfato cíclico (GMP-c) que media la mayoría de sus actividades biológicas a través de una protein kinasa G o fosfodiesterasa (Kone 2001) (Fig. 6). Se ha observado que ratones *knockout* con ausencia del receptor RPN-A muestran hipertensión, hipertrofia y dilatación cardíaca, y mueren antes de los 6 meses (Pandey *et al.*, 1999). El BNP posee una afinidad por el receptor RPN-A con una potencia 10 veces menor que el ANP, este hecho abre la posibilidad de que otro receptor guanilato ciclasa juegue un papel importante (Goy *et al.*, 2001). Además, se ha visto que los testículos y glándula adrenal de ratones *knockout* para RPN-A muestran un respuesta de alta afinidad para BNP que sólo podría ser reforzada por la presencia de un nuevo receptor en estos tejidos que presenta mayor afinidad por el BNP que por el ANP.

Aunque no se conoce el significado fisiológico y los componentes bioquímicos de este receptor, su existencia refuerza la hipótesis de que ANP y BNP realizan algunas acciones independientes.

Por otro lado, CNP no actúa a través de RPN-A sino que se une selectivamente al receptor RPN-B. Este receptor es poco sensible a ANP y BNP (Kone 2001).



**Figura 6.** Acción de los péptidos natriuréticos en las células diana. ANP y BNP se unen principalmente al receptor RPN-A que está unido a una cascada de señalización dependiente de guanosin monofosfato cíclico (GMP-c) que media la mayoría de sus actividades biológicas a través de una proteína quinasa G (PKG). CNP se une al receptor RPN-B. Además los tres se unen al receptor de aclaramiento (RPN-C). (Modificada de Gardner et al. *Molecular biology of the natriuretic peptide system: Implications for physiology and hypertension*. *Hypertension* 2007; 49:419-426).

La síntesis y liberación de los péptidos natriuréticos es el mayor proceso en la regulación de su concentración plasmática, pero además la eliminación de los péptidos de la circulación es también un punto a considerar (Rademaker et al., 1997). El aclaramiento de PN incluye dos vías importantes: degradación enzimática por endopeptidasas neutras y endocitosis vía RPN-C

(receptor de aclaramiento) seguida de degradación lisosomal (Nakao *et al.*, 1992). Algunos estudios sugieren que el aclaramiento renal juega un papel menor para las formas activas (C-terminal) de estos péptidos, mientras que para los fragmentos N-terminales (NT-proANP y NT-proBNP) diversos autores sugieren que es la principal vía (Vesely 2003). Sin embargo, en un trabajo posterior se ha demostrado que la excreción renal BNP y NT-proBNP es equivalente (Shou *et al.*, 2005). Se ha demostrado que el NT-proBNP muestra una buena correlación con el filtrado glomerular (GFR) y que sus niveles están influenciados por un empeoramiento de la función renal relacionada con la edad (Vesely 2003). Además estos fragmentos no se unen a los receptores RPN-C, ni tampoco son degradados por las endopeptidasas neutras.

### 2.3. ACCIONES FISIOLÓGICAS

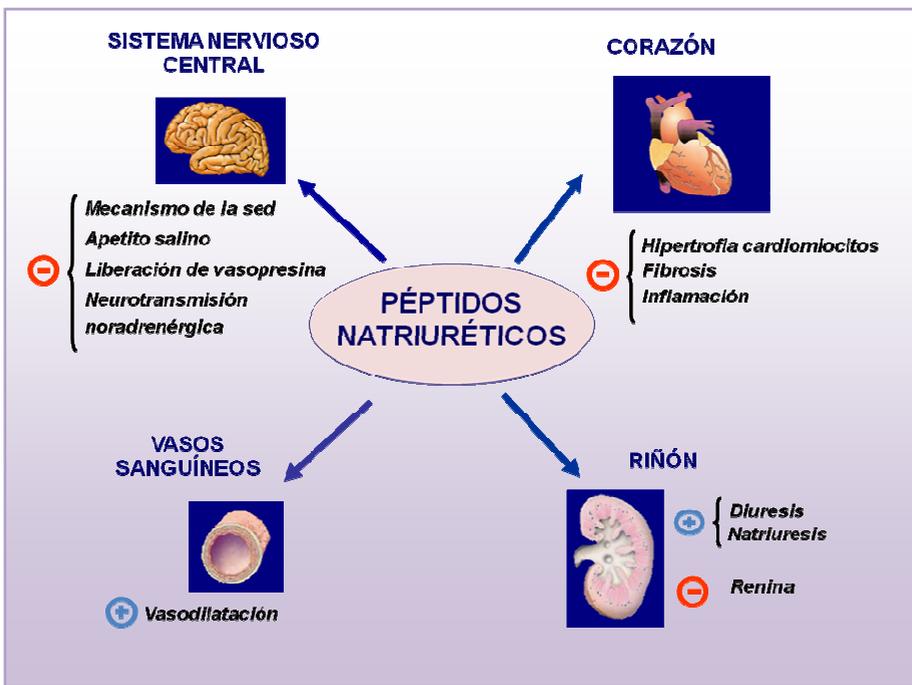
Los PN actúan como factores antihipertensivos y reductores del volumen plasmático, así que su intervención en el mantenimiento de la estabilidad circulatoria es muy importante (Charles *et al.*, 1993). Reducen la presión sanguínea, en parte, por una reducción en la precarga cardiaca causada por un cambio de fluido intravascular dentro del compartimiento extravascular, reflejando así una mayor permeabilidad del endotelio (Wijeyaratne & Moulton 1993, Vesely 2003). Pero la extravasación del fluido no es el único mecanismo que produce una reducción de la precarga, ya que los PN aumentan la capacitancia venosa, promoviendo la natriuresis que produce una reducción del volumen de fluido extracelular, resultados directos de los efectos de PN sobre el riñón y la supresión del eje renina-angiotensina-aldosterona (Hunt *et al.*, 1996). Además, los PN reducen el tono simpático en la vasculatura periférica (vasoconstricción), causado por una reducción de los barorreceptores o receptores de presión situados en el seno carotídeo y en el cayado aórtico (cuando aumenta la presión arterial envían un mayor número de impulsos nerviosos hasta el bulbo raquídeo), una supresión de la liberación de catecolaminas desde las terminaciones nerviosas, y especialmente, por la supresión del flujo simpático desde el sistema nervioso central (SNC). Por último, los péptidos natriuréticos disminuyen el umbral de activación vagal de

manera que se suprime el reflejo de taquicardia y vasoconstricción que acompañan la reducción en la precarga (Schultz *et al.*, 1988, Yang *et al.*, 1992).

Tanto el ANP como el BNP ejercen sus efectos diuréticos sobre el riñón a nivel del glomérulo y sus efectos natriuréticos a nivel del túbulo colector. En el glomérulo, ANP y BNP causan dilatación de la arteriola aferente y vasoconstricción de la eferente, dando lugar a un aumento de presión intraglomerular que produce un mayor filtrado (Marin-Grez *et al.*, 1986). También provocan un aumento en la acumulación de GMPc en las células mesangiales, causando su relajación y aumentando la superficie efectiva de filtración (Stockand & Sansom 1997). Por otra parte, los PN regulan diversos mecanismos implicados en la natriuresis: aumento de sodio en el túbulo colector de la médula renal a través de un descenso de la hipertonicidad medular interna; efecto inhibitorio de la captación de  $\text{Na}^+$ ; y estimulación de la secreción de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en el túbulo colector medular (Zeidel *et al.*, 1988, Light *et al.*, 1989, Zeidel 1995). Además, ANP y BNP inhiben la inducción del transporte de sodio y agua en el túbulo flexuoso proximal por angiotensina II, el transporte de agua por el antagonismo de vasopresina en el túbulo colector, y las acciones de aldosterona en el túbulo distal (Dillingham & Anderson 1986, Harris *et al.*, 1987). Finalmente, inhiben la secreción de renina y angiotensina II, ya que promueven el aumento del aporte de sodio a la mácula densa. Sin embargo, CNP no posee acción diurética, aunque inhibe la secreción de aldosterona, tiene un menor efecto sobre la presión arterial y secreción de sal y agua (Hunt *et al.*, 1994, Igaki *et al.*, 1996).

Los tres PN, sobretodo el CNP, son producidos en el cerebro. Aunque el ANP y BNP séricos no cruzan la barrera hematoencefálica, alcanzan zonas en el sistema nervioso central (eminencia media y área postrema). El mecanismo de acción de los PN en el cerebro se puede explicar por la distribución de los diferentes receptores. RPN-C está localizado en el SNC, pudiendo reflejar su efecto anti-crecimiento de la glia; RPN-A predomina en áreas adyacentes al tercer ventrículo, mediando los efectos de ANP sobre el apetito de la sal y la ingesta de agua; y, RPN-B predomina en el hipotálamo y en otras regiones rostrales, donde los péptidos inhiben la secreción de arginina-vasopresina y estimulan el tono simpático (Levin & Frank 1991, Langub *et al.*, 1995).

Los PN tienen también actividad antimitogénica tanto en el sistema cardiovascular como en otros sistemas. ANP y CNP inhiben la mitogénesis en cultivos de células vasculares y en arterias coronarias, principalmente a través de mecanismos que dependen de GMPc y del receptor RPN-A (Itoh *et al.*, 1990, Knowles *et al.*, 2001). Así que, los PN podrían modular el crecimiento de la pared vascular en patologías como aterosclerosis, hipertensión, o restenosis post-angioplastia. Además, ANP y BNP inhiben el crecimiento de fibroblastos cardíacos *in vitro*, retardando la deposición de colágeno y el remodelado proliferativo del corazón (Tamura *et al.*, 2000). A través de estas acciones los PN limitan potencialmente la proliferación miocárdica o la hipertrofia al daño por isquemia, regulando localmente el remodelado ventricular (Kone 2001) (Fig. 7).



**Figura 7.** Principales acciones de los péptidos natriuréticos a nivel del sistema nervioso central, corazón, vasos sanguíneos y riñón.

## 2.4. VARIABILIDAD

Se ha comprobado que NT-proBNP *in vitro* es mucho más estable que BNP, el cual presenta variaciones en sus niveles 48 horas después de su extracción a temperatura ambiente y también tras varios días a temperaturas bajas; sin depender del tipo de tubo de extracción, ni de los ciclos de congelación-descongelación previos a la determinación (Collinson *et al.*, 2004). Además, los diferentes métodos empleados dan lugar a discrepancias entre los niveles obtenidos, dando distintos valores de referencia y puntos de corte (Wu *et al.*, 2004, Clerico *et al.*, 2005, Emdin *et al.*, 2005). De esta manera, es necesaria la estandarización, a través de la selección de materiales apropiados y de un procedimiento de medida de referencia, para obtener resultados iguales, incluso cuando las determinaciones se realizan con diferentes métodos.

La mayor parte de la variabilidad de los resultados de NT-proBNP y BNP es debida a la variación fisiológica, mientras que la variación analítica es menor (Bruins *et al.*, 2004). El coeficiente de variación refleja la media de la variación fisiológica (coeficiente de variación intraindividual, CV<sub>i</sub>) y se ha observado en sujetos sanos y en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica estable que tiene un rango según autores del 30% al 50% para BNP y del 10% al 35% para NT-proBNP (Melzi d'Eril *et al.*, 2003, Bruins *et al.*, 2004, Clerico *et al.*, 2006, Cortés *et al.*, 2007). Esta variabilidad tan alta de los péptidos natriuréticos hace muy difícil el uso de valores de referencia. Sin embargo, hasta la fecha no se ha analizado el coeficiente de variación, de ningún péptido natriurético, en pacientes con hipertensión. Por otra parte, la imprecisión analítica (CV<sub>a</sub>) del ensayo no influye en su uso clínico mientras no sea superado el 50% del valor del CV<sub>i</sub> (CV<sub>a</sub> < 0,5x CV<sub>i</sub>) (Fraser 2004).

Para alcanzar reducciones importantes en el CV<sub>i</sub>, sería necesario conocer mejor los determinantes que producen este incremento. El ejercicio físico y la toma e infusión de líquidos afectan a las concentraciones de BNP y NT-proBNP (Lang *et al.*, 1993, Kjaer *et al.*, 2004, Heringlake *et al.*, 2004). Además, diversos estudios muestran que los niveles de BNP, y en menor grado los de NT-proBNP, aumentan a lo largo del día, alcanzando valores estables por la tarde (Bruins *et al.*, 2004). Estos cambios durante el día responderían al ritmo circadiano de los índices hemodinámicos, probablemente como

consecuencia del aumento de presión sanguínea y de la frecuencia cardíaca. Así que, podría estar indicado en estas determinaciones una estandarización de la actividad física, la toma de fluidos y el tiempo de obtención de la muestra. Existe también un aumento en los niveles de PN al aumentar la edad, siendo más notable en las personas sanas, y en las mujeres (Wang *et al.*, 2002, Redfield *et al.*, 2002).

A pesar de la variabilidad que presentan las concentraciones de los PN, los cambios en su concentración deberían ser considerados potencialmente relevantes en la clínica, ya que reflejan alteraciones en la activación del sistema neuroendocrino como resultado de mecanismos patológicos específicos y/o intervenciones farmacológicas.

## 2.5. PAPEL EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL

El concepto de que los péptidos natriuréticos (PN) pueden ser una herramienta útil para la evaluación de la enfermedad cardíaca en la clínica rutinaria ha sido motivo de análisis en los últimos 20 años. Sin embargo, este concepto necesita ser testado en la práctica clínica para garantizar que los PN puedan igualar a otras tecnologías cuyo uso ya está establecido.

La FDA (*Food and Drugs Administration*) ha aceptado como test de laboratorio para el diagnóstico de insuficiencia cardíaca (IC) el uso de BNP (Noviembre 2000, <http://www.fda.gov/cdrb/ode/guidance/1072.pdf>) y NT-proBNP (Noviembre 2002, <http://www.fda.gov/bbs/topics/answers/2002/ANSO1173.html>) en los Estados Unidos. También, las “Guías para el Diagnóstico de IC” de la *Sociedad Europea de Cardiología* han reconocido el valor potencial de los PN para el diagnóstico y manejo de la IC (Swedberg *et al.*, 2005; Dickstein *et al.*, 2008). Sin embargo, las Guías de la “*American Heart Association*” y del “*American College of Cardiology*” de los Estados Unidos consideran que el uso de los PN para el diagnóstico de IC aún debe ser investigado (Hunt *et al.*, 2005). No existe todavía un acuerdo general en la definición del valor de “punto de corte” de los PN que podría identificar sujetos con IC, debido en parte a que dependen del método analítico utilizado (Wu *et al.*, 2004, Clerico *et al.*, 2005, Emdin *et al.*, 2005).

En los pacientes con hipertensión esencial la hipertrofia ventricular izquierda es un potente factor de riesgo cardiovascular. Tanto en el estudio Framingham como en diferentes trabajos se ha visto que los péptidos natriuréticos están asociados positivamente con la masa del ventrículo izquierdo (Kohno *et al.*, 1992, Yamamoto *et al.*, 1996, Vasan *et al.*, 2002, Hildebrandt *et al.*, 2004, Toda *et al.*, 2010). Además, pruebas consistentes muestran que tanto los niveles en plasma de BNP como los de NT-proBNP, son altamente sensibles a la presencia de disfunción ventricular e hipertrofia, incluso en individuos asintomáticos (McDonagh *et al.*, 1998, Goetze *et al.*, 2006). No obstante, son limitados los estudios en los que se evalúe de manera directa el poder de predicción de hipertrofia de los niveles de NT-proBNP en la hipertensión arterial esencial (Mueller *et al.*, 2005, Mouly-Bertin *et al.*, 2008, Morillas *et al.*, 2008). En un estudio reciente, Rutten y col., han mostrado que en una población de individuos asintomáticos, sin enfermedad cardiovascular y mayores de 55 años, NT-proBNP mejora la predicción del riesgo, no sólo de insuficiencia cardíaca, también de enfermedad cardiovascular en general, después de ajustar el modelo estadístico por factores de riesgo clásicos (Rutten *et al.*, 2010). Sin embargo, sólo unos pocos estudios han evaluado el papel de los péptidos natriuréticos como marcadores de pronóstico en la hipertensión arterial (Suzuki *et al.*, 2002, Olsen *et al.*, 2004, Pedersen *et al.*, 2005, Hildebrandt *et al.*, 2004, Mouly-Bertin *et al.*, 2008, García *et al.*, 2009). El uso de los péptidos natriuréticos no se contempla en las guías actuales de hipertensión arterial, estos hallazgos necesitan ser confirmados por estudios clínicos randomizados con un mayor número de pacientes.

Por otra parte, el conocimiento de las variaciones en los niveles de NT-proBNP es crucial antes de su uso clínico en la monitorización de pacientes. Sin embargo, como hemos visto en el apartado anterior, aunque se ha evaluado la estabilidad del NT-proBNP en el tiempo en sujetos sanos (Melzi *et al.*, 2003) y en pacientes con insuficiencia cardíaca (Bruins *et al.*, 2004, Wu *et al.*, 2003, Schou *et al.*, 2007, Cortés *et al.*, 2007), nunca se ha analizado la variabilidad de este péptido en ningún seguimiento de pacientes con hipertensión arterial esencial.

### 3. RESPUESTA INFLAMATORIA

La inflamación es un mecanismo adaptativo y estrechamente regulado, que constituye la primera línea de defensa del organismo frente a un estímulo tóxico o situaciones de estrés, tales como traumas, infecciones, post-isquemia, o autoinmunidad. En estas circunstancias se produce un flujo de interacciones entre distintos factores solubles y diversas células, cuyo objetivo último es eliminar del organismo la causa inicial de la lesión y reparar el tejido afectado (Nathan 2002).

#### 3.1. CITOCINAS

Existen diversos tipos de mediadores implicados en el desarrollo de los procesos inflamatorios, entre los cuales destacan las especies reactivas del oxígeno (véase apartado 3.3), algunos lípidos (prostaglandinas, leucotrienos, tromboxano...) y aminoácidos modificados (histamina, serotonina...) y las citocinas. En este Proyecto de Tesis Doctoral nos centraremos en el estudio de algunas de las citocinas más representativas.

Se trata de proteínas de bajo peso molecular, producidas por diferentes tipos celulares, esenciales para la comunicación intercelular. Cada una de ellas se une a un receptor de superficie celular específico, generando una cascada de señalización que altera la función de la célula. Esto implica la regulación positiva o negativa de genes y sus factores de transcripción, que da como resultado la producción de otras citocinas, el aumento de receptores de superficie o la supresión de su propio efecto. Las citocinas son pleiotrópicas, es decir, actúan sobre muchos tipos celulares diferentes y además una misma célula puede expresar receptores para más de una de ellas; otra de sus características es la redundancia, diferentes citocinas comparten funciones similares.

Entre las principales citocinas destacan: a) la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF), b) la familia de la interleucina-6 (IL-6) y c) la familia de la interleucina-1 (IL-1):

a) Superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF)

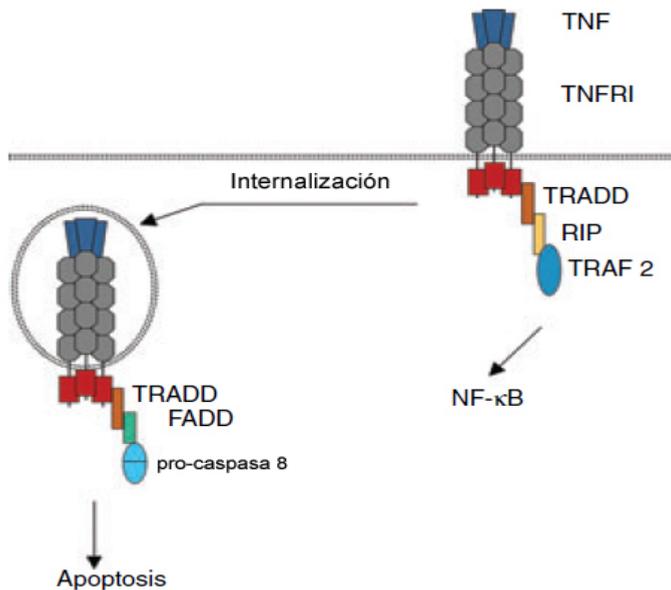
El TNF fue identificado por primera vez por Helson y cols. en 1975 y posteriormente clonado (Beutler *et al.*, 1986, Loetscher *et al.*, 1990). Esta citocina es miembro de una superfamilia de genes que regulan funciones biológicas esenciales en mamíferos (Locksley *et al.*, 2001). Como revelan las investigaciones sobre la actividad biológica de TNF, se trata de uno de los mediadores inflamatorios más prominentes con un papel muy importante en el inicio de la respuesta inflamatoria, ya que induce la producción de citocinas, la activación y expresión de moléculas de adhesión y estimula el crecimiento (Clauss *et al.*, 2001).

Con el avance en las técnicas de biología molecular, se han identificado muchas proteínas relacionadas con este ligando y con sus receptores; todas estas moléculas forman parte del sistema TNF/TNFR. La activación de los receptores de membrana mediante la unión de sus respectivos ligandos, promueve proliferación celular, supervivencia, diferenciación y apoptosis. Todos los ligandos de este sistema son proteínas transmembrana tipo 2. Algunos, como TNF, permanecen unidos a la membrana como pre-proteínas y son liberadas por metaloproteinasas para ser exportadas desde la célula productora como moléculas solubles maduras (Gearing *et al.*, 1994, Black, 2002) las cuales forman trímeros para poder activar sus receptores (Sprang y Eck, 1992, Peschon *et al.*, 1998). Otros ligandos, como la linfotoxina-alfa, son expresados sólo en forma soluble y otros, como la linfotoxina-beta, permanecen siempre integrados en la membrana celular.

La activación de los receptores por los ligandos da lugar al reclutamiento de diferentes proteínas adaptadoras las cuales activan múltiples vías de transducción de señal. Basándonos en las secuencias intracelulares de los miembros de la superfamilia TNFR podemos clasificar estos receptores en tres grupos (Dempsey *et al.*, 2003):

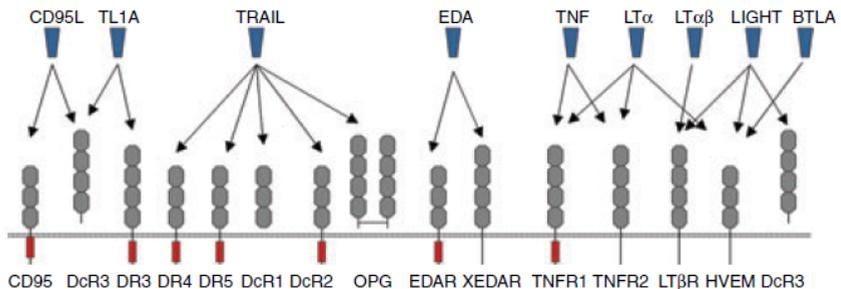
- I. El primer grupo incluye los siguientes receptores: Fas (CD95), TNF-R1, TRAIL-R1 (DR4), TRAIL-R2 (DR5), TRAIL-R4 (DcR2), TNFR25 (DR3), TRAMP y EDAR. Todos ellos contienen un *dominio de muerte* en

sus dominios citoplasmáticos. La activación de estos receptores desencadena el reclutamiento de unos adaptadores (FADD y TRADD) que se unen al *dominio de muerte* (Chinnaiyan *et al.*, 1996, Kischkel *et al.*, 2000). Estas moléculas activan la cascada de caspasas induciendo de esta manera la apoptosis (proceso que será expuesto en el apartado 3.2). La activación de sTNF-R1 induce también la transcripción de genes inflamatorios (Legler *et al.*, 2003, Micheau *et al.*, 2003), a través de la interacción con la proteína RIP y seguidamente la activación del factor- $\kappa\beta$  nuclear (NF- $\kappa\beta$ ). Esto significa que este receptor también protege a las células de la respuesta apoptótica, es decir, se trata de un equilibrio que está regulado a diferentes niveles (Krippner-Heidenreich *et al.*, 2002) (Fig. 8).



**Figura 8.** Señal de transducción de TNF-R1. (Modificada de Heblgans *et al.* *The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. Immunology* 2005; 115:1-20).

- II. Del segundo grupo de receptores forman parte: TNF-R2, CD27, CD30, CD40, LT $\beta$ R, O $\times$ 40, 4-1BB, BAFFR, BCMA, RANK, CAML, TACI, HVEM, AITR, XEDAR y TROY. Ninguno presenta el *dominio de muerte* y todos ellos promueven la activación de la proteína TIM, que se une con algún miembro de la familia TRAF, llegándose de esta manera a la activación del factor- $\kappa$  $\beta$  nuclear, JNK, p38, ERK o PI3K (Dempsey *et al.*, 2003). La activación de estas vías promueve la expresión de citocinas y también la expresión de proteínas intracelulares reguladoras con actividad anti-apoptótica (Wang *et al.*, 1998).
- III. El tercer grupo de receptores incluye TRAIL-R3 (DcR1), DcR3 y OPG. Ninguno de ellos contiene motivos de señalización pero compiten con los otros dos grupos de receptores por sus correspondientes ligandos (Fig. 9).



**Figura 9.** Miembros más representativos de la superfamilia TNF/TNFR. Los ligandos se muestran en azul y las flechas indican las interacciones con sus receptores. Los ectodominios de los receptores están representados en gris. Los *dominios de muerte* se encuentran en el dominio citoplasmático y están representados como cilindros rojos. Los demás receptores se unen a los adaptadores TRAF para la transducción de señal. (Modificada de Heblgans *et al.* *The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumor necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. Immunology* 2005; 115:1-20).

Numerosos estudios han establecido a los miembros de esta familia de marcadores inflamatorios como mediadores en enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide (Furst 2010) o la soriasis (Chaudhari *et al.*, 2001) y

también en la inflamación crónica, como es el caso de la colitis ulcerosa (Mackay *et al.*, 1998) o la enfermedad de Crohn (Ferkolj 2009), llegándose incluso a la aplicación de terapias anti-TNF. Sin embargo, todavía son discutidos los mecanismos moleculares y celulares que lleven a poder establecer una potencial diana terapéutica en alguno de los diferentes ligandos y receptores de esta familia para el tratamiento de estas y otras enfermedades.

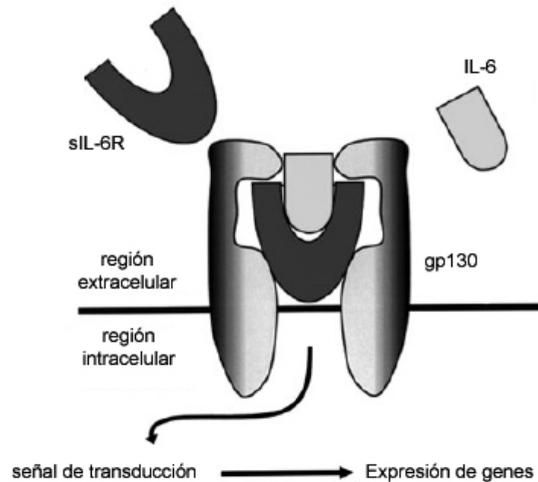
Además, los niveles de TNF-alfa y los de sus receptores son predictores de mortalidad en pacientes con insuficiencia cardíaca (Ferrari *et al.*, 1995, Rauchhaus *et al.*, 2000, Deswal *et al.*, 2001) y concretamente sTNF-R1 es el mayor predictor de muerte y de insuficiencia cardíaca, tanto a corto como a largo plazo, en pacientes con infarto agudo de miocardio (Valgimigli *et al.*, 2005). También se ha visto que las concentraciones de TNF-alfa se mantienen elevadas después de un infarto de miocardio e incrementan el riesgo de eventos cardíacos (Ridker *et al.*, 2000a).

#### b) Familia de la interleucina-6 (IL-6)

En 1968 se publicó que existían interacciones entre las células T y B durante la producción de anticuerpos (Miller *et al.*, 1968, Claman *et al.*, 1968), y surgió la teoría de que ciertas moléculas son liberadas desde las células T y estimulan las células B para que produzcan anticuerpos. En 1986, uno de estos factores fue clonado y estudiado, y actualmente se conoce con el nombre de IL-6 (Hirano *et al.*, 1986, Kishimoto *et al.*, 1986). Se trata de una citocina pleiotrópica con un amplio rango de actividades biológicas que está implicada en la regulación de la respuesta inmunitaria (Kopf *et al.*, 1994), hematopoyesis (Yoshizaki *et al.*, 1998), inflamación (Romano *et al.*, 1997) y oncogénesis (Jourdan *et al.*, 1990).

El sistema de receptores de IL-6 consiste en dos cadenas polipeptídicas: un receptor de IL-6 (IL-6R) de 80 kDa y un transductor de señal (gp130) de 130 kDa (Taga *et al.*, 1989, Hibi *et al.*, 1990). La unión de IL-6 con IL-6R induce la interacción de gp130. Existen dos formas de IL-6R, una soluble y otra transmembrana. Esta última contiene una región corta intracitoplasmática y se estimula por la unión de la molécula de IL-6 (Fig. 10). Sin embargo, gp130

actúa como componente de receptor de diferentes citocinas, es decir, el sistema IL-6R está compuesto por un receptor específico (IL-6R) y de un transductor de señal común para diversas moléculas (gp130), como CNTF en el cerebro (Ip *et al.*, 1992) o cardiotropina en el corazón (Pennica *et al.*, 1995).

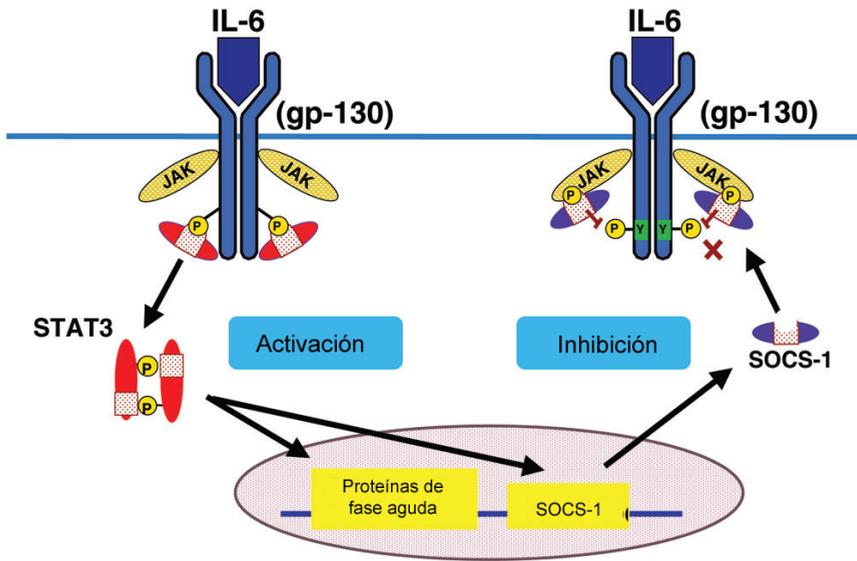


**Figura 10.** Sistema IL-6R. (Modificada de Kishimoto, *IL-6: from its discovery to clinical applications*. *Int Immunol.* 2010; 22:347-352)

En un principio resultaba complicado entender el mecanismo de acción de gp130 al no poseer un dominio catalítico específico. Pero esto fue resuelto con el descubrimiento del transductor de señal *Janus activated kinase* (JAK) (Silvennoinen *et al.*, 1993, Wegenka *et al.*, 1993) y el activador de transcripción STAT (Zhong *et al.*, 1994). La activación de gp130 lleva a la activación de JAK, seguidamente estas quinasas causan la inducción de la fosforilación de tirosina y la asociación de STAT3, la cual dimeriza y es translocada al núcleo llevando a la expresión de genes determinados.

IL-6 es esencial para la vida pero su sobreproducción constitutiva está a menudo implicada en diversas enfermedades. Así que, es necesario un

mecanismo de regulación negativa en este sistema. Existe una molécula llamada SOCS la cual se une con JAKs para inhibir su actividad y de esta manera regular negativamente la señal (Endo *et al.*, 1997, Naka *et al.*, 1997, Starr *et al.*, 1997) (Fig. 11).



**Figura 11.** Regulación de la señal de IL-6 por SOCS. (Modificada de Kishimoto. *Interleukin-6: discovery of a pleiotropic cytokine. Arthritis Res Ther.* 2006; 8:52)

Diversos estudios han mostrado la implicación de IL-6 en diversas patologías, como la artritis reumatoide (Hirano *et al.*, 1988) o la enfermedad de *Castleman* (Yoshizaki *et al.*, 1989); además, se ha visto que el bloqueo de la acción de IL-6 es una prometedora terapia en diversas enfermedades inflamatorias crónicas (Yokota *et al.*, 2005).

Diferentes estudios prospectivos de cohortes han mostrado que IL-6 está asociada con un incremento en el riesgo de eventos cardiovasculares, concretamente predice el riesgo de sufrir un infarto de miocardio en varones

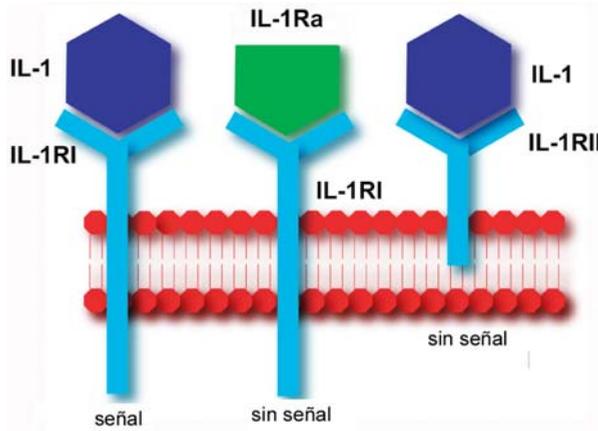
sanos (Ridker *et al.*, 2000b) asociándose también con mortalidad cardiovascular en mujeres mayores de 65 años (Volpato *et al.*, 2001).

c) Familia de la intereucina-1 (IL-1)

IL-1 fue descrita por primera vez en 1972 por Gery y Waksman. Posteriormente se vio que se trataba de una familia de citocinas compuesta por tres proteínas, IL-1 $\alpha$ , IL-1 $\beta$  y el receptor antagonista de IL-1 (IL-1ra), todas ellas sintetizadas por diversas células, principalmente macrófagos, neutrófilos, linfocitos, células dendríticas, células endoteliales, hepatocitos, fibroblastos y células musculares. Mientras que IL-1 $\alpha$  es expresada de manera constitutiva por diferentes tipos celulares y su síntesis es estimulada durante la inflamación, IL-1 $\beta$  no se sintetiza hasta que la célula recibe una señal inflamatoria. La molécula madura de IL-1 $\beta$  es liberada de las células por una vía no clásica ATP dependiente (Ferrari *et al.*, 1997) y la liberación de IL-1 $\alpha$  se da por otra vía diferente (Mandinova *et al.*, 2003). La molécula madura de IL-1 $\beta$  es la forma soluble de IL-1 y por el contrario IL-1 $\alpha$  no suele secretarse siendo difícilmente detectada en los fluidos corporales. Sin embargo, las dos moléculas se unen al mismo receptor (IL-1RI) para activar la vía de transducción de la señal llevando a la activación de NF- $\kappa$ B o AP-1. También se unen a otro receptor (IL-1RII), pero en este caso no se produce transducción de la señal. Las diferencias en las funciones de las dos formas de IL-1 todavía no están esclarecidas (Vicenová *et al.*, 2008).

IL-1ra es un inhibidor endógeno de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , el cual compite de manera competitiva por la unión al receptor IL-1RI, pero esta molécula no lo activa (Dinarello 1996) (Fig. 12). Estas moléculas se han visto implicadas en diferentes patologías como Alzheimer (Nicoll *et al.*, 2000), infarto cerebral (Um *et al.*, 2005), esclerosis sistémica (Kawaguchi *et al.*, 1994), soriasis (Mee *et al.*, 2007) y artritis reumatoide en la que un recombinante de IL-1ra (“Anakinra”) se utiliza como terapia (Bresnihan *et al.*, 1998). Por otro lado, existen suficientes evidencias para afirmar la implicación de estas citocinas en las diferentes patologías del sistema cardiovascular, como la aterosclerosis (Libby 2002), el infarto de miocardio (Guillen *et al.*, 1995, Patti *et al.*, 2004), la miocarditis (Matsumori *et al.*, 1994) o la cardiopatía dilatada (Francis *et al.*,

1998). También se ha indicado que la expresión cardiaca de IL-1 es suficiente para inducir hipertrofia ventricular izquierda (Nishikawa *et al.*, 2006).



**Figura 12.** Señal de transducción de IL-1. (Modificada de Bujak and Frangogiannis. *The role of interleukin-1 in the pathogenesis of heart disease. Arch Immunol Ther Exp.* 2009; 57:165-176).

## 3.2. APOPTOSIS

### 3.2.1. Proceso de apoptosis

El proceso de muerte celular programada se denominó por primera vez con el término apoptosis en el año 1972 por Kerr y col., los cuales utilizaron este término para describir el mecanismo intrínseco de un suicidio celular programado involucrado en el recambio normal de hepatocitos. También fueron los primeros en realizar una clara distinción entre la morfología celular de apoptosis y de necrosis. Sin embargo, este fenómeno ya había sido expuesto con otros términos. El primero que lo describió fue Vogt en 1842 y fue redescubierto varias veces en las décadas sucesivas en base a la morfología característica de las células que lo presentan.

La apoptosis juega un papel relevante en la embriogénesis, la metamorfosis y la homeostasis celular y además es considerada como un mecanismo de defensa para eliminar células infectadas, mutadas, o dañadas. Es decir, esta vía de muerte celular programada responde tanto a estímulos fisiológicos, como a agresiones externas. De esta manera, la desregulación de este proceso, ya sea por déficit o por exceso, se ha asociado con diversas patologías (Thompson 1995). Una resistencia de las células a la apoptosis permite la persistencia de células autoreactivas o mutadas, las cuales pueden provocar diferentes desórdenes como el cáncer o la autoinmunidad. En cambio, en las situaciones donde hay un exceso de apoptosis se ha asociado con isquemia o infarto, así como también con enfermedades neurodegenerativas. El proceso de apoptosis juega un papel importante en el remodelado cardiaco en respuesta a un incremento crónico o agudo en la carga hemodinámica (Cook y Poole-Wilson 1999). Estudios previos han mostrado que los niveles circulantes de diferentes marcadores de apoptosis están incrementados en pacientes con insuficiencia cardiaca (Nishigaki *et al.*, 1997, Zen *et al.*, 2005, Valgimigli *et al.*, 2005) y también están asociados con miocarditis (Fuse *et al.*, 2000), aterosclerosis (Okura *et al.*, 2002, Michowitz *et al.*, 2005) y diabetes mellitus tipo 2 (Cosson *et al.*, 2005). Además, existen evidencias que indican que la apoptosis está sobreestimulada en el corazón de pacientes con hipertensión esencial (Fortuño *et al.*, 2001, González *et al.*, 2002).

En contraste con la necrosis, la apoptosis se caracteriza por mantener la membrana celular hasta estadios tardíos en el proceso de muerte, en los que se va arrugando a medida que el volumen celular disminuye. El hecho de que la membrana plasmática se mantenga íntegra durante todo el proceso es de vital importancia para los organismos, ya que de esta forma se evita la liberación de material celular al espacio intercelular, que provocaría una reacción inflamatoria (Savill y Fadok 2000). Mientras que los contenidos lisosomales permanecen intactos, el fraccionamiento celular prosigue su curso formando los cuerpos apoptóticos, unas vesículas pequeñas unidas a la membrana que son fagocitadas por las células vecinas. Una característica distintiva a nivel bioquímico es la fragmentación del ADN. Además, durante la apoptosis los fosfolípidos de fosfatidil serina, que habitualmente se encuentran de manera exclusiva en la bicapa lipídica interna de la célula, quedan expuestos en la

bicapa externa (Fadok *et al.*, 1992). El proceso apoptótico es dependiente de energía y puede depender de la síntesis de nuevas proteínas, diferencia importante con la necrosis, donde falla el aporte de energía y la síntesis proteica se interrumpe.

Los mecanismos moleculares que llevan a la apoptosis no están completamente esclarecidos, aunque se conocen muchas de las proteínas implicadas en la regulación de este proceso (Kinloch *et al.*, 1999, Sastry y Rao 2000). Se puede dividir el proceso en tres fases:

- 1) Fase iniciadora. Los factores inductores de apoptosis entran en contacto con la célula, y dependiendo de la naturaleza de cada estímulo, desencadenan diferentes respuestas intracelulares que transmiten la señal a la “maquinaria apoptótica” mediante cambios en su expresión o estado de activación. Se han definido tres mecanismos de iniciación: receptores de muerte, acción de las células T citotóxicas y daño celular (estrés, radiación etc.)
- 2) Fase ejecutora. Una vez se han integrado los estímulos, existe un punto, a partir del cual el proceso es irreversible y la célula muere. Este punto de no retorno ocurre cuando se activan en forma de cascada las “caspasas”, proteasas encargadas de degradar los diferentes sustratos celulares.
- 3) Fase de destrucción. En esta fase, la célula pierde su integridad y presenta la morfología y los cambios bioquímicos típicos de la apoptosis.

### **3.2.2. Diferentes vías de apoptosis**

La apoptosis, como otros procesos celulares vitales para la supervivencia de los organismos, es un proceso muy conservado evolutivamente. Ha sido estudiado en los principales organismos mediante modelos utilizados en investigación, desde los más sencillos, como el nematodo *C. elegans* y la mosca *Drosophila*, hasta en cultivos celulares de mamíferos, donde en cada uno de ellos se ha focalizado el estudio de las

diferentes partes del mecanismo de muerte celular programada, lo cual ha permitido entender los puntos de control del proceso.

Se han descrito dos vías principales que llevan a la apoptosis celular: a) la vía extrínseca o vía del receptor de muerte, y b) la vía intrínseca o vía mitocondrial (Ashkenazi y Dixit 1998, Gupta 2000), aunque existen evidencias recientes que sugieren que en ciertos tipos celulares estas dos vías deben de estar conectadas (Gupta 2000). Los mecanismos de acción de los agentes apoptóticos, tanto intracelulares como extracelulares, convergen para activar un grupo de caspasas que actúan como proteasas específicas para aspartatos y cisteínas, que son activadas por rotura proteolítica (Thorberry y Lazebnik 1998). Las caspasas iniciadoras son capaces de activar caspasas efectoras o de amplificar la señal, incrementando su propia activación (Wang *et al.*, 2005), hasta culminar en la muerte celular (Cohen 1997, Thorberry y Lazebnik 1998).

#### a) Vía extrínseca o de receptores de muerte.

La vía extrínseca requiere la participación de receptores de membrana para su activación (Ashkenazi y Dixit 1998). Como ya hemos descrito en el apartado 3.1.1., estos receptores de muerte pertenecen a la superfamilia génica del factor de necrosis tumoral (TNF) y se caracteriza por tener un dominio extracelular rico en cisteínas y una secuencia citoplasmática homóloga, llamado dominio de muerte. Generalmente, este dominio permite a los receptores de muerte iniciar la cascada de eventos que llevan a la apoptosis. La activación de estos receptores provoca la formación del complejo de señalización inductor de muerte, denominado DISC (death-inducing signaling complex) (Kischkel *et al.*, 1995, Algeciras-Schimmich *et al.*, 2002). Este complejo está formado por la unión de las proteínas adaptadoras FADD (fas-associated death domain) y TRADD (TNFR1-associated death domain), mediante su dominio de muerte a la región citoplasmática de sus receptores. A través de interacciones homotípicas de DED (dominios efectores de muerte), las proteínas adaptadoras provocan el reclutamiento y activación de la caspasa 8 (Marsden y Strasser 2003). Una vez se ha activado la caspasa-8 activa las caspasas efectoras (Gupta 2001), o bien, actúa sobre un miembro de proteínas de la familia Bcl-2

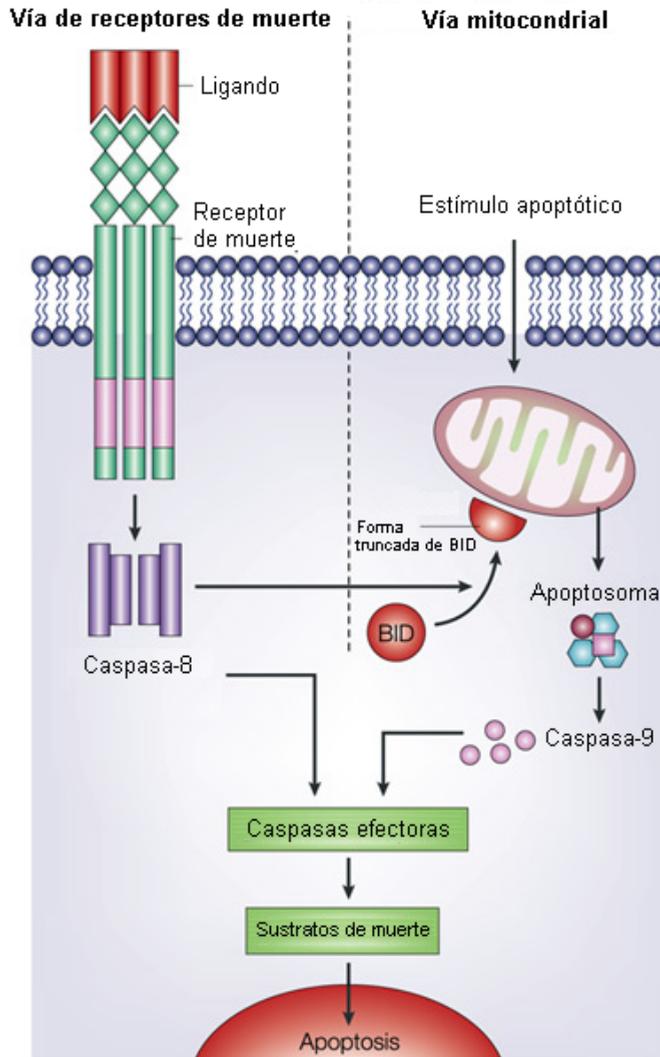
(Bid), el cual en su forma truncada puede translocar hacia la mitocondria, donde por un mecanismo no esclarecido, activaría la vía mitocondrial (Fig. 13).

#### b) Vía intrínseca o mitocondrial

La vía intrínseca o mitocondrial es independiente de los receptores de muerte (Sastry y Rao 2000, Gupta 2001, Zimmermann et al., 2001, Ashe y Berry 2003). Está mediada por ciertos estímulos como agentes quimioterapéuticos, radiación UV o moléculas de estrés (especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno); esta vía también puede ser utilizada por los receptores de muerte para amplificar la señal inductora de apoptosis (Mundle y Raza 2002).

La familia Bcl-2 está involucrada en el control de la apoptosis, participando como activadores o inhibidores de muerte intracelulares. La liberación de citocromo c, viene regulada por miembros de esta familia de proteínas, tanto anti-apoptóticos (Bcl-2 y Bcl-x<sub>L</sub>) como pro-apoptóticos (Bax, Bim y Bad) (Adams y Cory 1998), facilitando o inhibiendo su liberación hacia el citoplasma. Sin embargo, no se conoce el mecanismo por el cual las proteínas de la familia Bcl-2 regulan y liberan el citocromo c desde la mitocondria hasta el citosol, aunque se cree que cambios en la permeabilidad de la membrana mitocondrial podrían causar la rotura de su membrana exterior (Kroemer *et al.*, 1997, Vander Heiden *et al.*, 1997). Así que, una vez se ha liberado el citocromo c desde la mitocondria, se formará el apoptosoma por el ensamblamiento de Apaf-1 (Apoptotic protease-activating factor) con la procaspasa-9, la cual se rompe autolíticamente produciendo caspasa-9 activa que se libera del complejo para activar otras caspasas (Fig. 13).

En este Proyecto de Tesis Doctoral nos centraremos en el estudio de la vía extrínseca a través del análisis de la forma soluble de dos de los receptores de muerte más representativos: sTNF-R1 y sFas.



**Figura 13.** Diferentes vías de apoptosis. (Modificada de Igney and Kramer. *Death and anti-death: tumor resistance to apoptosis*. *Nat Rev Cancer* 2002,2:277-288).

### 3.3. ESTRÉS OXIDATIVO

Existe una compleja interacción entre la inflamación mediada por citocinas y el estrés oxidativo. Diversos estudios han mostrado la estrecha relación entre los niveles circulantes de citocinas inflamatorias y diversos marcadores de estrés oxidativo en pacientes hipertensos (Cottone *et al.*, 2006, Cottone *et al.*, 2007, Androulakis *et al.*, 2009). En la última década, algunos estudios han sugerido que las citocinas, no sólo inducen la producción de especies reactivas de oxígeno (EROs), sino que la síntesis de citocinas puede estar inducida por EROs (Meldrum *et al.*, 1998, Nakamura *et al.*, 1998, Usui *et al.*, 2000). Estas últimas actúan tanto a nivel intercelular como intracelular modulando la actividad de algunos factores de transcripción, llegándose de esta manera a la transcripción de genes que codifican citocinas, factores de crecimiento y moléculas de adhesión (Lum *et al.*, 2001, Harrison *et al.*, 2003).

#### **3.3.1. Radicales libres y especies reactivas del oxígeno**

Los radicales libres son especies químicas con uno o más electrones desapareados o impares en su orbital más externo (con o sin carga) que aparecen como consecuencia inevitable del metabolismo celular (Betteridge 2000). La propiedad de tener electrones desapareados le confiere a los radicales libres una gran reactividad química, que les llevará a interaccionar de manera rápida con diferentes átomos o moléculas, tendiendo a ceder el electrón extra, a aceptar un electrón, o a unirse a un no radical, en cuyo caso este último se convertiría también en un radical libre. Estas especies químicas pueden crearse intra y extracelularmente, mediante mecanismos en los que están implicados numerosas enzimas y tipos celulares. En condiciones normales, la inmensa mayoría de los radicales libres proceden de la respiración aerobia y contienen oxígeno (Halliwell 1991). El radical más abundante en los sistemas biológicos es el oxígeno molecular.

El término especies reactivas de oxígeno (EROs) se utiliza para designar tanto a los radicales de oxígeno (superóxido, hidroxilo) (Fridovich 1978, Fridovich 1983, McCord 1983) como a las especies no radicales que se comportan como oxidantes (peróxido de hidrógeno, oxígeno molecular

singlete, ácido hipocloroso) (Weiss 1989). Estas especies presentan una doble acción en los organismos vivos, considerándose beneficiosos, ya que participan en procesos como la defensa frente a infecciones, actuando como moléculas transmisoras de señales en varios tipos celulares (Babior 1973, Babior 1978), participando en eventos fisiológicos relacionados con la unión ligando-receptor y en la activación transcripcional. Además, las EROs están implicadas en el crecimiento, apoptosis y en la respuesta adaptativa a la lesión o al estrés (Li y Jackson 2002). Sin embargo, su producción en exceso ocasiona daño a nivel celular. El desequilibrio entre la producción y la eliminación de las EROs se denomina estrés oxidativo (Becker 2004, Juránek 2005).

Estas especies pueden actuar sobre cualquier molécula: proteínas, lípidos, carbohidratos y ácidos nucleicos.

- a) Proteínas. Los aminoácidos, péptidos y proteínas, son susceptibles de sufrir el ataque de las EROs oxidando sus grupos sulfhidrilo. Además, pueden producir fragmentación de cadenas polipeptídicas, agregación de proteínas mediante enlaces cruzados covalente y no covalentemente intra e intermolecularmente, y alteraciones en su conformación espacial. La producción de grupos carbonilo impide el transporte iónico en membranas y de receptores, mensajeros celulares y enzimas reguladoras del metabolismo (Rodríguez 2001).
- b) Lípidos. Los lípidos de las membranas celulares contienen grandes cantidades de ácidos grasos poliinsaturados susceptibles de sufrir lesión oxidativa (Gutteridge 1995). Las estructuras fosfolipídicas de las membranas pueden desorganizarse y destruirse, liberándose el contenido de los orgánulos al citoplasma y de la célula al espacio intercelular.
- c) Carbohidratos. La glucosa o el manitol pueden reaccionar con el radical OH para producir sustancias reactivas (Blake 1987). Además, los polisacáridos pueden fragmentarse en unidades más sencillas (Greenwald y Moy 1980).
- d) Ácidos nucleicos. Los efectos de las EROs sobre el ADN incluyen roturas en cadenas, modificaciones de bases y entrecruzamientos

ADN-proteína (Betteridge 2000, Cracowski et al., 2000). Una de las modificaciones más características producidas por las EROs es la oxidación de bases del ADN, tanto genómico como mitocondrial, siendo la guanina la base más susceptible a ser modificada (Nakabeppu 2004). La lesión oxidativa mejor estudiada es la 8-hidroxiguanina (8-OH-Gua) y su equivalente 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG); esta última es considerada un importante biomarcador de estrés oxidativo celular (Cooke 2000). Una vez modificada la base nitrogenada es muy importante que no permanezca en el genoma, así que existen diversos mecanismos de reparación (Rosenquist 1997, Bialkowski y Zaszprzak 1998, Mo 1992). Los productos de la lesión del ADN oxidado son solubles en agua y excretados por la orina. Esta excreción en orina representa el rango promedio del daño oxidativo global en el organismo, mientras que los niveles de bases oxidadas en el ADN genómico *in situ*, es una medida de su concentración en tejido o tipo celular, en el momento de la extracción de la muestra (Cooke 2001).

### **3.3.2. Estrés oxidativo, función endotelial e hipertensión.**

El estrés oxidativo está implicado en numerosos procesos fisiopatológicos (Drexler 1998, Borcea *et al.*, 1999, Betteridge 2000, Cracowski *et al.*, 2000, Inouye *et al.*, 2000), participando en la regulación del flujo sanguíneo, la inhibición de la agregación plaquetaria y de la adhesión leucocitaria, y en el control del crecimiento (Harrison 1997, Alexander 1995). La desregulación de estos procesos, está relacionada con la disfunción endotelial, la cual media la enfermedad vascular asociada a hipercolesterolemia, diabetes, aterosclerosis e hipertensión (Davies *et al.*, 1995).

Durante muchos años, el endotelio vascular se consideró como un límite liso e inerte entre el fluido hemático y la pared vascular, que sólo servía para impedir la libre difusión de macromoléculas. Sin embargo, se ha demostrado que el endotelio presenta acciones endocrinas, paracrinas y autocrinas, convirtiéndolo en un importante regulador del tono vascular y de la homeostasis. Bajo condiciones normales, existe un equilibrio entre los factores producidos por el endotelio, pero este equilibrio puede verse alterado con la

presencia de enfermedades cardiovasculares como la hipertensión (Cai y Harrison 2000, Brunner *et al.*, 2005). La excesiva producción de especies reactivas del oxígeno, más una caída de las actividades antioxidantes, se ha relacionado con las condiciones fisiopatológicas que dañan el sistema cardiovascular. En la HTA existe daño endotelial, causado por estrés oxidativo y por otros factores, como el aumento de la presión arterial y de la viscosidad sanguínea. Este daño a nivel del endotelio causa una disminución de la producción de óxido nítrico, además de una mayor susceptibilidad a la formación de placas aterogénicas (Ferroni 2006). Sin embargo, todavía no está claro si la disfunción endotelial es una anomalía primaria o una consecuencia directa de la elevación de la presión arterial (Taddei y Salvetti 2002, Nadar *et al.*, 2004, Brunner *et al.*, 2005, Sciacqua *et al.*, 2005).

La existencia de estrés oxidativo vascular se ha demostrado en numerosos modelos experimentales de hipertensión (Rajagopalan *et al.*, 1996, Fukui *et al.*, 1997, Kerr *et al.*, 1999, Schnackenberg y Wilcox 1999, Griendling *et al.*, 2000, Lerman *et al.*, 2001, Wu *et al.*, 2001, Belló-Klein *et al.*, 2001, Dobrian *et al.*, 2004, , Rodriguez-Iturbe *et al.*, 2003, Park *et al.*, 2002, Viridis *et al.*, 2002, Tanito *et al.*, 2004). Los estudios que demuestran la relación entre el estrés oxidativo y la hipertensión en humanos son más limitados, y además existe variabilidad de resultados dependiendo del marcador que se analice (Ward y Croft 2006). Varios autores han descrito que no existe incremento en algunos marcadores de estrés oxidativo en HTA (Tse *et al.*, 1994, Cracowski *et al.*, 2003, Ward *et al.*, 2004). Sin embargo, diversos trabajos han mostrado que la producción de ERO está incrementada en pacientes hipertensos (Taddei *et al.*, 1998, Touyz y Schiffrin 2001, Yasunari *et al.*, 2002). Además, se ha visto que los pacientes con hipertensión presentan un incremento en algunos marcadores de estrés oxidativo y una reducción en la actividad de los mecanismos antioxidantes, independientemente de los valores de presión arterial (Redón *et al.*, 2003). En otros estudios se ha mostrado que el tratamiento antihipertensivo es capaz de reducir el estrés oxidativo (Sáez *et al.*, 2004), que 8-OHdG en orina es un buen marcador para monitorizar pacientes hipertensos (Espinosa *et al.*, 2007) y que la hipertensión es el principal determinante de los niveles de estrés oxidativo en una población de alto riesgo cardiovascular (Fandos *et al.*, 2009).

### 3.4. RESPUESTA INFLAMATORIA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL.

Numerosos estudios, realizados en modelos animales de experimentación, han dado soporte a la idea de que el sistema inmune está involucrado en la cascada de eventos que conducen a la hipertensión arterial (Takeichi *et al.*, 1980, Dzielak 1992, Chen *et al.*, 1993). Además, existen datos que sugieren que la hipertensión promueve la expresión endotelial de citocinas (Liu *et al.*, 1996). Una elevación de la presión sanguínea causa inflamación crónica del endotelio y esta alteración endotelial, a su vez, provoca un empeoramiento del control de la presión arterial, se trata de un círculo vicioso.

Anormalidades metabólicas como la dislipemia, resistencia a la insulina, diabetes y obesidad, también causan inflamación endotelial, y a través de este mecanismo puede llegarse a un aumento de la presión sanguínea (Björntorp *et al.*, 2000). El tejido adiposo, ha sido reconocido como un órgano endocrino activo (Zhang *et al.*, 1994) y además en los sujetos obesos, este tejido representa una importante fuente de citocinas proinflamatorias. También, se ha publicado que diversos mediadores inflamatorios, concretamente la proteína C reactiva, TNF-alfa y TGF- $\beta$ , están relacionados con daño cardiovascular en pacientes hipertensos con síndrome metabólico (Sciarretta *et al.*, 2007). Por otra parte, la edad está asociada con una desregulación primaria de la respuesta inflamatoria, y por ello esta variable por sí misma debería ser considerada como un factor proinflamatorio (Bruunsgaard *et al.*, 2001). Los resultados de todos estos estudios sugieren que la inflamación crónica podría ser un *link* común entre factores de riesgo cardiovascular e hipertensión. Por otra parte, se ha observado que los niveles de proteína C reactiva, están asociados con el futuro desarrollo de hipertensión (Sesso *et al.*, 2003) y además predicen el riesgo de infarto de miocardio y de ictus cerebral (Ridker *et al.*, 1997). Sin embargo, a pesar de todos los hallazgos obtenidos hasta la fecha, todavía no existen datos, en humanos, para afirmar una posible relación causa-efecto entre citocinas e hipertensión.

Algunos estudios han indicado la existencia de una relación cerrada entre hipertensión e inflamación, mostrando que tanto la expresión en tejido como la concentración en plasma de mediadores inflamatorios están incrementados, además de en modelos experimentales de hipertensión, en

pacientes hipertensos. Entre los mediadores inflamatorios que se han visto incrementados en el plasma de pacientes hipertensos están: proteína C reactiva, IL-6, IL-1 $\beta$ , IL-1ra, Fas ligando y TNF-alfa (Sesso *et al.*, 2003, Bautista *et al.*, 2005, Dalekos *et al.*, 1996, Okura *et al.*, 2002, Peeters *et al.*, 2001). Además, se ha visto que TNF-alfa e IL-6 son factores de riesgo independientes de la presión arterial en sujetos hipertensos (Bautista *et al.*, 2005); en otro estudio realizado en sujetos mayores de 65 años se demostró que IL-1 $\beta$  e IL-1ra también lo eran (Barbieri *et al.*, 2003). También se ha visto que un incremento en la presión de pulso está asociado con la activación del sistema TNF-alfa (González-Clemente *et al.*, 2005), y que algunas citocinas, como TNF-alfa e IL-1, están implicadas en la reactividad vascular de resistencia arterial, pudiendo inducir la síntesis de moléculas vasoconstrictoras como endotelina-1 o angiotensina II (Klemm *et al.*, 1995, Virdis y Schiffrin 2003).

Sin embargo, los resultados obtenidos sobre la asociación entre IL-6 y TNF-alfa con la presión arterial son contradictorios, mientras que algunos autores muestran una relación directa entre estas moléculas y la presión arterial (Bautista *et al.*, 2005, Chae *et al.*, 2001), otros no observan esta asociación (Sheu *et al.*, 2000). Además, como hemos descrito anteriormente, existe un incremento en las concentraciones de IL-6 y TNF-alfa en pacientes hipertensos (Bautista *et al.*, 2005); sin embargo, otros autores no han observado diferencias estadísticamente significativas en los niveles de estas moléculas entre pacientes con hipertensión esencial y sujetos control (Peeters *et al.*, 2001, Cottone *et al.*, 1998).

Por otra parte, estudios *in vitro* han mostrado que algunas citocinas, como TNF-alfa, TGF-beta, IL-1 e IL-6, causan hipertrofia en cardiomiocitos (Yokoyama *et al.*, 1997, Lim *et al.*, 2005, Nishikawa *et al.*, 2006, Fredj *et al.*, 2005). También se ha visto que estos marcadores están en concentraciones elevadas en estados de sobrecarga de presión llevando al desarrollo de fibrosis miocárdica y disfunción diastólica *in vivo* (Kapadia *et al.*, 2000, Kuwahara *et al.*, 2004). Además, el bloqueo de NF-kB reduce la hipertrofia miocárdica en respuesta a una infusión crónica de angiotensina II (Kawano *et al.*, 2005). Sin embargo, son limitados los estudios en los que se analicen los niveles de marcadores inflamatorios en pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda (Leibowitz *et al.*, 2005, López *et al.*, 2007).

Otro hallazgo interesante ha sido la asociación entre la variabilidad de la presión arterial e IL-6 y TNF-alfa en pacientes hipertensos; los autores de este trabajo concluyen que la inflamación podría ser un *link* entre la variabilidad de la presión arterial y la lesión a órganos diana, ya que se ha demostrado que existen asociaciones independientes entre la lesión de órganos diana y la variabilidad de la presión arterial (Tatascione *et al.*, 2007). Sin embargo, el mecanismo exacto que explicaría esta asociación no está claro. Un posible argumento sería el estrés hemodinámico al que está sometida la pared arterial, resultando en una hipertrofia de las grandes arterias. Pero la teoría de la inflamación es otra prometedora hipótesis, ya que existe un estudio experimental previo en un modelo animal de rata en el cual se puede observar esta relación (Zhang *et al.*, 2003).

## II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

El sistema circulatorio humano es una intrincada red de mecanismos destinados a mantener la homeostasis de presión y flujo pese a las diferentes perturbaciones que sufre y por tanto, una elevación de la presión arterial puede provocar un trastorno en las relaciones de los factores que mantienen este equilibrio. La hipertensión esencial, es el resultado de una compleja interacción entre cambios genéticos, neurohormonales, inflamatorios y bioquímicos. Como consecuencia el paciente hipertenso tiene una gran cantidad de moléculas circulantes en concentraciones elevadas que podrían servir como marcadores de la situación clínica y del pronóstico de la enfermedad.

Por todo ello, nuestra hipótesis de trabajo es que en un grupo de pacientes hipertensos asintomáticos, sin insuficiencia cardíaca, estables clínica y funcionalmente, aun estando sometidos a tratamiento farmacológico, las concentraciones del fragmento aminoterminal del propéptido natriurético tipo B (NT-proBNP) y de diferentes marcadores de inflamación, apoptosis, fibrosis miocárdica y estrés oxidativo podrían estar aumentadas con respecto a un grupo de controles sanos, y que además, este incremento podría ser mayor en el subgrupo de pacientes hipertensos con presencia de hipertrofia ventricular izquierda. Por otra parte, nos planteamos evaluar si estas moléculas podrían estar relacionadas con diferentes parámetros ecocardiográficos de función ventricular diastólica y con el índice de masa del ventrículo izquierdo y además valorar su poder predictivo para la detección de hipertrofia. Además, hemos decidido analizar la influencia de la presencia de obesidad sobre estas moléculas. También hemos querido investigar la relación entre los marcadores inflamatorios apoptóticos estudiados y los marcadores de fibrosis miocárdica. Por último, nos planteamos evaluar la relación entre diferentes factores de riesgo cardiovascular, la hipertrofia ventricular izquierda y la inflamación con el estrés oxidativo en este grupo de pacientes asintomáticos con hipertensión esencial.

Analizando prospectivamente una cohorte de pacientes diagnosticados de hipertensión arterial esencial, se pretende confirmar la hipótesis de esta tesis doctoral mediante los siguientes objetivos:

1. Estudiar los niveles séricos de NT-proBNP en pacientes con hipertensión esencial. Analizar su poder diagnóstico y predictivo de hipertrofia ventricular izquierda.
2. Relacionar los niveles séricos de NT-proBNP con diferentes parámetros de función ventricular diastólica.
3. Evaluar el papel de NT-proBNP en la obesidad, comparando los niveles de este péptido entre pacientes hipertensos obesos y no obesos.
4. Analizar la presencia de NT-proBNP en orina, relacionar sus niveles urinarios con los encontrados en suero e investigar su potencial en el diagnóstico de hipertrofia ventricular izquierda.
5. Analizar la variabilidad en los niveles séricos de NT-proBNP durante un seguimiento de 24 meses, en pacientes diagnosticados de hipertensión de acuerdo con la presencia de hipertrofia ventricular izquierda.
6. Estudiar los niveles plasmáticos de diferentes marcadores de inflamación (sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra) en pacientes con hipertensión esencial. Analizar su poder diagnóstico de hipertrofia ventricular izquierda.
7. Relacionar los niveles de los marcadores inmunológicos analizados (sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra) con diferentes parámetros de función ventricular diastólica.
8. Evaluar el papel de los marcadores inmunológicos analizados (sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra) en la obesidad, comparando los niveles de estas moléculas entre pacientes hipertensos obesos y no obesos.
9. Relacionar los niveles de los marcadores inmunológicos analizados (sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra) con los niveles de NT-proBNP sérico.

10. Analizar la relación entre marcadores inflamatorios de apoptosis (sFAS y sTNF-R1) con marcadores de fibrosis miocárdica (PINP y PIIINP). Relacionar estas moléculas con la función ventricular diastólica.
11. Evaluar la influencia de diferentes factores de riesgo cardiovascular, de la hipertrofia ventricular izquierda y de diferentes marcadores inflamatorios sobre los niveles de un marcador urinario de estrés oxidativo: 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina.

# III. MATERIAL Y MÉTODOS

## 1. ESTUDIO DE BIOQUÍMICA CLÍNICA

### 1.1. PACIENTES

Se estudiaron 253 pacientes consecutivos (139 varones y 114 mujeres, con una edad media de  $60 \pm 13$  años), procedentes de las consultas externas de cardiología de 11 hospitales españoles: Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela, Centro de Especialidades Virgen de los Reyes de Sevilla, Hospital General de Alicante, Hospital General de Valencia, Hospital General Universitario de Elche, Hospital Marina Baixa de Vilajoyosa, Hospital San Francesc de Borja de Gandía, Hospital Universitario Dr. Peset de Valencia, Hospital Universitario San Juan de Alicante, Hospital Virgen de Arrixaca de Murcia y Hospital Universitario La Fe de Valencia.

Todos los pacientes estaban diagnosticados de hipertensión esencial según los criterios de la *European Society of Cardiology* (ESC) y de la *American Heart Association* (AHA) (Guidelines Committee 2003, Chobanian *et al.*, 2003). Se les realizó un análisis bioquímico y hematológico de rutina, electrocardiograma, radiografía de tórax y estudio eco-Doppler. Además, los especialistas rellenaron un cuestionario específico, con especial atención a la diabetes, dislipemia, enfermedad coronaria, ictus o enfermedad renal.

Cada paciente también proporcionó una muestra de orina, se les tomó muestras de sangre y mediante un protocolo estándar se les tomó la tensión arterial sistólica (TAS) y diastólica (TAD) en el brazo izquierdo entre las 8:00 y las 11:00 de la mañana, siguiendo las recomendaciones de la ESC y de la AHA (Guidelines Committee 2003, Chobanian *et al.*, 2003); también se calculó la presión de pulso (diferencia entre TAS y TAD). Además de la presión arterial se registró cuidadosamente la frecuencia cardíaca (contando el pulso durante al menos 30 segundos o más si se observaban arritmias). Se midió el perímetro de cintura y se obtuvo el peso corporal y la talla. El índice de masa corporal se calculó como el peso en kilogramos dividido por el cuadrado de la altura en metros y la obesidad se definió como un índice de masa corporal  $>30 \text{ kg/m}^2$ . El índice de filtrado glomerular se calculó utilizando la ecuación MDRD (*modified diet in renal disease*) (Levey *et al.*, 1999). Los pacientes se encontraban bajo tratamiento médico estable, siguiendo las guías de la ESC y de la AHA

(Guidelines Committee 2003, Chobanian *et al.*, 2003), al menos 2 meses antes de su inclusión en el estudio, tomando una combinación de medicamentos: el 50% fue tratado con antagonistas de los receptores tipo II de la angiotensina (ARA II), el 32% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), el 44% con diuréticos, el 20% con bloqueadores beta (BB), el 20% con antagonistas de los canales de calcio y el 26% con estatinas. Ningún paciente estaba bajo tratamiento con vitaminas A, E o C. Las características clínicas más relevantes de la población de estudio se muestran en la Tabla 1. Posteriormente, en el apartado de resultados se mostrarán las tablas correspondientes a cada subestudio, con el número de pacientes analizados en función de la disponibilidad de muestras.

Se excluyeron los pacientes con hipertensión secundaria, fracción de eyección menor del 50%, cardiopatía isquémica, dilatada o valvular, fibrilación auricular, síndrome coronario agudo, enfermedades crónicas, enfermedad renal y hepática crónica o aguda, enfermedades inmunológicas, alcoholismo y adicción a drogas.

Los pacientes se estudiaron durante un periodo de 24 meses, con 3 fases de obtención de muestras y recopilación de datos: basal, a los 12 meses y a los 24 meses. En cada una de las fases los pacientes eran citados en consultas externas de cardiología de su hospital, donde se chequeaban sus síntomas, medicación, eventos cardiacos (ingresos o visitas a urgencias, ambos de origen cardiaco), se tomaban muestras de sangre, se recogían también muestras de orina y se realizaba un estudio eco-Doppler.

El grupo control estuvo formado por 48 sujetos (pareados por edad y sexo), reclutados entre el personal de los hospitales participantes en el estudio, que presentaban un análisis bioquímico y hematológico normal, sin hipertensión, ni diabetes y sin antecedentes de enfermedad cardiovascular. A todos ellos se les tomó muestras de sangre y facilitaron las muestras de orina.

El procedimiento fue aprobado por los comités éticos de revisión de cada centro hospitalario participante, y el estudio se realizó de conformidad con las líneas directivas de la buena práctica clínica y las normas éticas para la experimentación humana establecidas por la Declaración de Helsinki (Rickham

1964). Cada paciente dio su consentimiento informado por escrito para su inclusión en el estudio.

**Tabla 1.** Características clínicas del grupo de estudio (n=253)

<b>Variables</b>	
Edad (años)	60 ± 13
Género (varón)	55%
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	149 ± 21
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	87 ± 11
Presión de pulso (mm Hg)	62 ± 18
Frecuencia cardíaca (lpm)	71 ± 13
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	30 ± 4
Perímetro de cintura (cm)	100 ± 10
Colesterol total (mg/dL)	213 ± 37
LDL (mg/dL)	133 ± 33
HDL (mg/dL)	50 ± 12
Glucosa (mg/dL)	105 ± 27
Creatinina en plasma (mg/dL)	0,97 ± 0,26
FGR (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	93 ± 38
Hemoglobina (mg/dL)	14 ± 1
Na (mEq/L)	140 ± 4
Troponina T (ng/mL)	0,01 ± 0,002
Diabetes	18%
Obesidad	43%
Tabaquismo	18%
HVI (masa VI normalizada por área)	51%
HVI (masa VI normalizada por altura)	57%
Tiempo de evolución de la HTA (meses)	90 ± 96
Parámetros ecocardiográficos:	
Fracción de eyección (%)	59 ± 5
E/A	0,9 ± 0,2
Velocidad de propagación del flujo mitral (cm/s)	48 ± 11
IVRT (ms)	95 ± 7
Índice del volumen telesistólico (mL/m <sup>2</sup> )	24 ± 7
Índice del volumen telediastólico (mL/m <sup>2</sup> )	58 ± 14
Tiempo de deceleración (ms)	200 ± 38
Desplazamiento del plano aurículoventricular (mm)	12 ± 1,1
Índice de masa del VI (g/m <sup>2</sup> )	117 ± 28
Índice de masa del VI (g/m <sup>2,7</sup> )	52 ± 17

E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; FGR, filtrado glomerular renal; HDL, lipoproteínas de alta densidad; HTA, hipertensión arterial; HVI, hipertrofia ventricular izquierda; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; LDL, lipoproteínas de baja densidad; Na: sodio; VI: ventrículo izquierdo.

---

## 1.2. OBTENCIÓN DE LAS MUESTRAS

### 1.2.1. Sanguíneas

Las muestras de sangre se obtuvieron entre las 8:00 y 11:00 de la mañana, mediante venopunción periférica, con el paciente en posición sentada al menos 30 minutos antes de la extracción. Se utilizaron tres tipos diferentes de tubos de extracción al vacío:

- Tubo de cristal con adición de anticoagulante EDTA, al 15% (0,12 mL) (BD Vacutainer K3E; REF 368480) de 10 mL. Se centrifugó inmediatamente después de la extracción.
- Tubo de cristal con adición de anticoagulante heparina, 170 U.I (BD Vacutainer NH; REF 368480) de 10 mL. Se centrifugó inmediatamente después de la extracción.
- Tubo de cristal de 9,5 mL con silicona unida en la pared interior para facilitar la retracción del coágulo (BD Vacutainer SST™; REF 368510). Tras la extracción se mantuvo una hora a temperatura ambiente antes de su centrifugación.

Los tubos con EDTA y heparina fueron centrifugados a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, y el tubo de suero fue centrifugado a 3.000 rpm durante 10 minutos a temperatura ambiente (TA). Posteriormente, se aisló el sobrenadante, se alicuotó en criotubos de plástico serigrafiados de 5 mL y se almacenó a una temperatura de -80°C hasta su posterior análisis.

### 1.2.2. Urinarias

Las muestras de orina fueron proporcionadas por los pacientes en botes de plástico estériles, extrayendo un volumen de 10 mL mediante tubos al vacío de plástico sin aditivos (BD Vacutainer Z; REF: 364915). La muestra se correspondía con la primera orina de la mañana. Después los tubos fueron centrifugados a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C. Se aisló el sobrenadante, se alicuotó en criotubos de plástico de 5 ml serigrafiados, almacenándose a una temperatura de - 80°C.

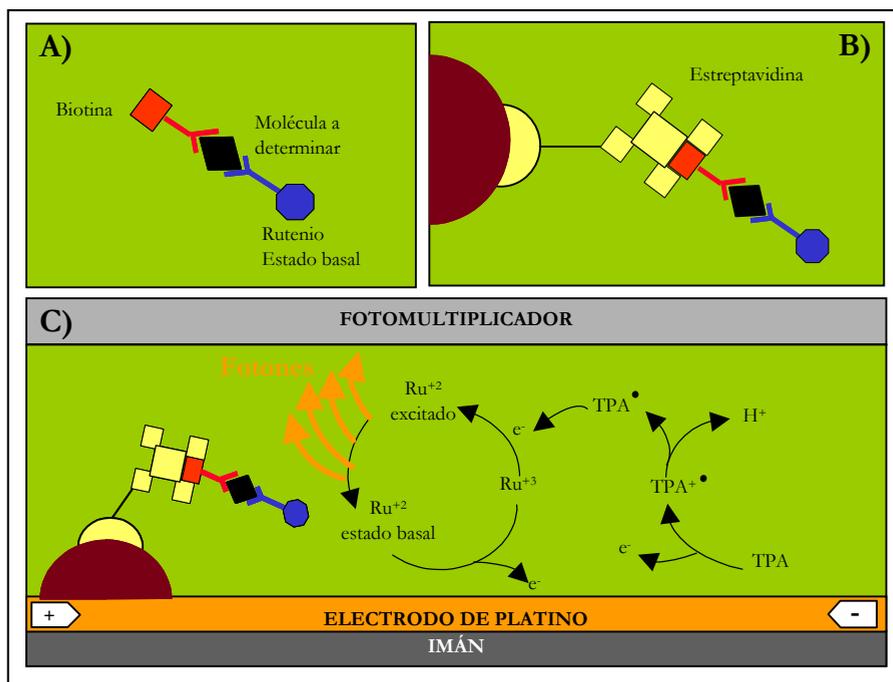
### 1.3. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL FRAGMENTO N-TERMINAL DEL PROPÉPTIDO NATRIURÉTICO TIPO B (NT-proBNP)

Las muestras séricas y urinarias fueron descongeladas (una sola vez) a una temperatura de 4°C, y se alicuotó un volumen de 350 µL en “eppendorfs” de plástico estériles. Los sueros fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, y las orinas se centrifugaron dos veces a 13.300 rpm durante 30 min a 4°C para evitar interferencias con las precipitación de sales. Se aisló el sobrenadante.

Los niveles de NT-proBNP fueron determinados mediante el analizador automático *Elecys 2010* (Roche Diagnostics, Alemania). Se empleó el test “*Elecys proBNP*”, un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA). Todos los reactivos del test se almacenaron a 4°C. El principio del test se basa en la técnica “sándwich” (Fig. 1):

- 1) Incubación de 15 µL de muestra (suero u orina), con un anticuerpo biotinilado monoclonal específico anti-NT-proBNP (aminoácidos 1-76) y un anticuerpo específico monoclonal anti-NT-proBNP (aminoácidos 1-108), marcado con quelato de rutenio (Quelato tris (2,2'-bipiridi) rutenio (II) (Ru(bpy)<sub>2</sub>)<sup>2+</sup>) (“fase sólida”).
- 2) Incorporación de micropartículas recubiertas de estreptavidina, formando un complejo fijado a la fase sólida por interacción entre biotina y estreptavidina.
- 3) La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo.
- 4) Los elementos no fijados se eliminan posteriormente mediante un lavado con el reactivo “*ProCell*”.
- 5) Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.

Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración realizada en el sistema *Elecys proBNP* (referencia a tres puntos) y una curva master incluida en el código de barras del reactivo. El tiempo de incubación empleado para obtener un resultado es 18 minutos, con un intervalo de concentración de 5 a 35.000 pg/mL. Niveles superiores al límite de detección pueden diluirse 1:2. La precisión intraensayo fue de 2,1% y la interensayo de 2,6%. El test no presentó interferencias con ictericia (bilirrubina  $\leq 35$  mg/dL), hemólisis (hemoglobina  $\leq 1,4$  g/dL), lipemia (triglicéridos  $\leq 4.000$  mg/dL), biotina  $\leq 30$  ng/mL, factores reumatoides ( $\leq 1.500$  UI/mL) y con 51 fármacos de uso frecuente.



**Figura 1. Principio del inmunoensayo de electroquioluminiscencia (ECLIA).** En el dibujo A, se muestra la unión del anticuerpo biotinilado (color rojo) y del anticuerpo marcado con quelato de rutenio (color azul) a la molécula a determinar (color negro). Después se produce la adición de las moléculas de estrepavidina (color amarillo) ancladas a las micropartículas magnéticas (color marrón) que se unen a la fase sólida (figura B). Por último la mezcla de reacción es introducida en la célula de lectura: se fijan las partículas a la base gracias a un imán, y se produce la excitación del rutenio, por acción de una corriente eléctrica y del compuesto Tri Propil Amina (TPA), con la consiguiente liberación de fotones que son cuantificados por un fotomultiplicador (C).

#### 1.4. MÉTODO DE DETERMINACIÓN DEL PROPÉPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO I (PINP)

Las muestras séricas fueron descongeladas a una temperatura de 4°C, y se alicuotó un volumen de 350 µL en “ependorfs” de plástico estériles. Los sueros fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C.

Los niveles de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP) fueron determinados mediante el analizador automático *Elecsys 2010* (Roche Diagnostics, Alemania). Se empleó el test “*Elecsys total PINP*” que es un inmunoensayo de electroquimioluminiscencia (ECLIA). Todos los reactivos del test se almacenaron adecuadamente a 4°C. El principio del test se basa en la técnica “sándwich” (Fig. 1):

- 1) Incubación de 20 µL de muestra (suero), un anticuerpo biotinilado monoclonal específico anti-PINP y un anticuerpo específico monoclonal anti-PINP marcado con quelato de rutenio (Quelato tris (2,2'-bipiridi) rutenio (II) (Ru(bpy)<sup>2</sup><sub>3</sub>) (“fase sólida”).
- 2) Incorporación de micropartículas recubiertas de estreptavidina, formando un complejo fijado a la fase sólida por interacción entre biotina y estreptavidina.
- 3) La mezcla de reacción es trasladada a la célula de lectura donde, por magnetismo, las micropartículas se fijan temporalmente a la superficie del electrodo.
- 4) Los elementos no fijados se eliminan posteriormente mediante un lavado con el reactivo “*ProCell*”.
- 5) Al aplicar una corriente eléctrica definida se produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide directamente con un fotomultiplicador.

Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración realizada en el sistema mediante referencia a dos puntos y una curva master incluida en el código de barras del reactivo. El tiempo de incubación empleado para obtener un resultado es 18 minutos, con un intervalo de medición de 5 a 1.200

$\mu\text{g/L}$ . Las concentraciones superiores al límite de detección pueden diluirse con una dilución recomendada de 1:2. La precisión intraensayo fue de 2,3% y la interensayo de 2,8%. El test no presentó interferencias con ictericia (bilirrubina  $<65 \text{ mg/dL}$ ), hemólisis (hemoglobina  $<1,8 \text{ g/dL}$ ), lipemia (triglicéridos  $\leq 2.000 \text{ mg/dL}$ ), biotina  $<50 \text{ ng/mL}$ , factores reumatoides ( $\leq 2.490 \text{ UI/mL}$ ) y con 30 fármacos de uso frecuente.

### 1.5. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (TNF-alfa, caquectina)

Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a  $4^\circ\text{C}$ , y alicuotadas en volúmenes de  $150 \mu\text{L}$  en “eppendorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a  $1.300 \text{ rpm}$  durante 10 minutos a  $4^\circ\text{C}$ , aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles del factor de necrosis tumoral alfa fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (*Strakine human TNF-alpha ELISA*, Strathmann Biotec, Germany) basado en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, de  $100 \mu\text{L}$  de cada muestra de plasma, con un anticuerpo monoclonal específico anti-TNF-alfa que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado de los pocillos (5 veces) con  $300 \mu\text{L}$  de tampón de lavado.
- 3) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con el anticuerpo secundario biotinilado.
- 4) Lavado de los pocillos (5 veces) con  $300 \mu\text{L}$  de tampón de lavado.
- 5) Incubación de 30 minutos, a temperatura ambiente y en agitación, con  $100 \mu\text{L}$  del conjugado de estreptavidina-peroxidasa, que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.

- 6) Lavado de los pocillos (5 veces) con 300  $\mu$ L de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo de detección no unido al “complejo”.
- 7) Incubación de 30 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 100  $\mu$ L de 3,3',5,5' tetra metilbendicidina (TMB), que al unirse a la peroxidasa del anticuerpo de detección da un producto coloreado.
- 8) Adición de 100  $\mu$ L de “solución de parada” ( $H_2SO_4$ ) a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.
- 9) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2.5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal obtenida a partir de las distintas concentraciones de TNF-alfa sintético. El rango de concentración del ensayo es de 0 a 1000 pg/mL, con un límite de detección de 1,3 pg/mL. La precisión intraensayo media fue 7,4% y la interensayo 8,9%.

#### 1.6. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR SOLUBLE TIPO 1 DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (sTNF-R1, p55/p60, sCD120a, TNFRSF1A)

Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 150  $\mu$ L en “ependorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C y se aisló el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles del receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R1) fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (*Hbt human sTNF-R1 ELISA test kit*, Hycult Biotechnology, The Netherlands) basado en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 2 horas a temperatura ambiente y en agitación, de 100  $\mu\text{L}$  de cada muestra de plasma y con un anticuerpo monoclonal específico anti-sTNF-R1 anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado.
- 3) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con un anticuerpo secundario biotinilado.
- 4) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado.
- 5) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con 100  $\mu\text{L}$  del conjugado de estreptavidina-peroxidasa, que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.
- 6) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo que no se une al “complejo”.
- 7) Incubación de 30 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 100  $\mu\text{L}$  de 3,3',5,5' tetra metilbendicidina (TMB), que se une a la peroxidasa del anticuerpo de detección dando un producto coloreado.
- 8) Adición de 100  $\mu\text{L}$  de “solución de parada” a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, que produce un cambio de color.
- 9) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2.5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal construida a partir de las distintas concentraciones de sTNF-R1 sintético. El rango de concentración del ensayo es de 15,6 a 1000  $\text{pg/mL}$ , con un límite de detección de 25  $\text{pg/mL}$ . La precisión intraensayo media fue 6,5% y la interensayo 9,1%.

### 1.7. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR SOLUBLE TIPO 2 DEL FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA (sTNF-R2, p75/p80, sCD120b, TNFRSF1B)

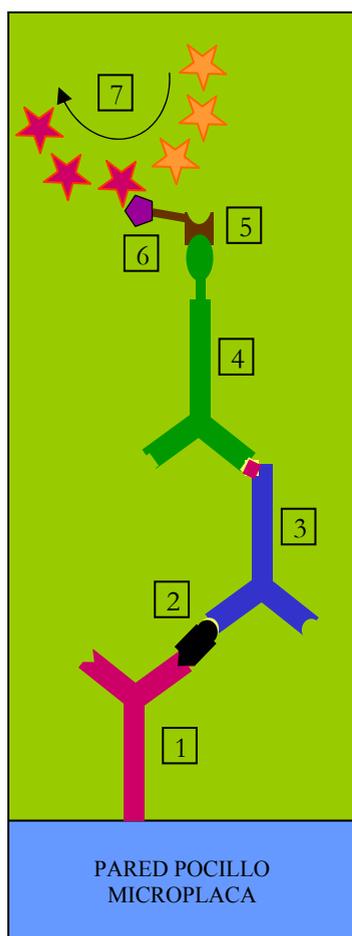
Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 150 µL en “eppendorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C y se aisló el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles del receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R2) fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (*Hbt human sTNF-R2 ELISA test kit*, Hycult Biotechnology, The Netherlands) que se basa en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 2 horas, a temperatura ambiente y en agitación, de 100 µL de cada muestra de plasma y con un anticuerpo monoclonal específico anti-sTNF-R2 que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200 µL de tampón de lavado.
- 3) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con el anticuerpo secundario biotinilado.
- 4) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200 µL de tampón de lavado.
- 5) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con 100 µL del conjugado de estreptavidina-peroxidasa, que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.
- 6) Lavado de los pocillos (4 veces) con 200 µL de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo que no se une al “complejo”.
- 7) Incubación de 30 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 100 µL de 3,3',5,5' tetra metilbendicidina (TMB), que se une a la peroxidasa del anticuerpo de detección dando un producto coloreado.

- 8) Adición de 100  $\mu\text{L}$  de “solución de parada” a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.
- 9) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2.5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal construida a partir de distintas concentraciones de sTNF-R2 sintético. El rango de concentración del ensayo es de 15,6 a 1000  $\text{pg/mL}$ , con un límite de detección de 25  $\text{pg/mL}$ . La precisión intraensayo media fue 4,7% y la interensayo 7,6%.



**Figura 2. Principio del inmunoensayo enzimático:** El anticuerpo monoclonal primario se encuentra anclado a la pared del pocillo de la microplaca (1). Éste se une a la molécula a determinar (2). Seguidamente se añade el anticuerpo secundario biotilado que se unirá al complejo (3). A continuación se introduce en el pocillo un conjugado de estreptavidina-peroxidasa formándose un inmuno-complejo (4). Después se añade el TMB (3,3',5,5' tetra metilbencidina (5) que se unirá a la peroxidasa para producir una reacción colorimétrica, que será bloqueada con la adición de una “solución de parada” (6), cuya enzima cataliza un cambio de color en cada pocillo de la microplaca (7).

## 1.8. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE INTERLEUCINA-6 (IL-6, BSF2, IFNB2)

Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 150 µL en “ependorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles de interleucina-6 fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (*Strakine human IL-6 ELISA*, Strathmann Biotec, Germany) basado en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, de 100 µL de cada muestra de plasma, con un anticuerpo monoclonal específico anti-IL-6 que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado de los pocillos (5 veces) con 300 µL de tampón de lavado.
- 3) Incubación de 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, con el anticuerpo secundario biotilado.
- 4) Lavado de los pocillos (5 veces) con 300 µL de tampón de lavado.
- 5) Incubación de 30 minutos, a temperatura ambiente y en agitación, con 100 µL del conjugado de estreptavidina-peroxidasa, que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.
- 6) Lavado de los pocillos (5 veces) con 300 µL de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo de detección no unido al “complejo”.
- 7) Incubación de 30 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 100 µL de 3,3',5,5' tetra metilbencidina (TMB), que al unirse a la peroxidasa del anticuerpo de detección da un producto coloreado.
- 8) Adición de 100 µL de “solución de parada” (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.

- 9) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2.5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal obtenida a partir de las distintas concentraciones de IL-6 sintética. El rango de concentración del ensayo es de 0 a 80 pg/mL, con un límite de detección de 0,3 pg/mL. La precisión intraensayo media fue 6,1% y la interensayo 8,3%.

### 1.9. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL ANTAGONISTA DEL RECEPTOR DE LA INTERLEUCINA-1 (IL-1ra, IL-1F3)

Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 300 µL en “eppendorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo en una microcentrífuga (modelo 5415 R Eppendorf) a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles del antagonista del receptor de la interleucina-1 (IL-1ra) fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (*Quantikine human IL-1ra R&D Systems*, U.S.A) que se basa en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 2 horas, a temperatura ambiente y en agitación, de 200 µL de cada muestra de plasma y con un anticuerpo monoclonal específico anti-IL-1ra que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado los pocillos (4 veces) con 400 µL de tampón de lavado.
- 3) Incubación de 2 horas, a temperatura ambiente y en agitación, con 200 µL de conjugado (anticuerpo secundario policlonal + estreptavidina-peroxidasa), que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.
- 4) Lavado los pocillos (4 veces) con 400 µL de tampón de lavado.

- 5) Incubación de 20 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 200  $\mu\text{L}$  de 3,3',5,5' tetra metilbendicidina (TMB), que al unirse a la peroxidasa del anticuerpo de detección da un producto coloreado.
- 6) Adición de 50  $\mu\text{L}$  de “solución de parada” ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.
- 7) Cuantificación de la absorbancia en densidad óptica (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2.5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal obtenida a partir de las distintas concentraciones de IL-1ra sintética. El rango de concentración del ensayo es de 0 a 3000 pg/mL, con un límite de detección de 22 pg/mL. La precisión intraensayo media fue 4,9% y la interensayo 5,4%.

#### 1.10. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DEL RECEPTOR FAS EN SU FORMA SOLUBLE (sFAS, CD95, APO-1, TNFRSF6)

Las muestras plasmáticas (EDTA) fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 150  $\mu\text{L}$  en “ependorfs” de plástico estériles. Los plasmas fueron centrifugados previamente al ensayo a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles de sFas fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (Diacclone sCD95 (Apo/Fas) ELISA kit, France) que se basa en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 1 hora, a temperatura ambiente y en agitación, de 100  $\mu\text{L}$  de cada muestra de plasma, con un anticuerpo monoclonal anti-sFas que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca y con 50  $\mu\text{L}$  de anticuerpo secundario biotinilado.
- 2) Lavado de los pocillos (3 veces) con 300  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado.

- 3) Incubación de 30 minutos, a temperatura ambiente y en agitación, con 100  $\mu\text{L}$  del conjugado de estreptavidina-peroxidasa, que se une al antígeno formando un “inmuno-complejo”.
- 4) Lavado de los pocillos (3 veces) con 300  $\mu\text{L}$  de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo de detección que no se une al “complejo”.
- 5) Incubación de 30 minutos, en oscuridad y a temperatura ambiente, con 100  $\mu\text{L}$  de 3,3',5,5' tetra metilbendicidina (TMB), que se une a la peroxidasa del anticuerpo de detección dando un producto coloreado.
- 6) Adición de 100  $\mu\text{L}$  de “solución de parada” ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.
- 7) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2,5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva lineal construida a partir de las distintas concentraciones de sFas sintética. El rango de concentración del ensayo es de 93,75 a 3000 pg/mL, con un límite de detección de 47 pg/mL. La precisión intraensayo media fue 5,8% y la interensayo 8,05%.

#### 1.11. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE 8-HIDROXI-2'-DESOXIGUANOSINA (8-OHdG, 8-oxo-dG)

Las muestras de orina fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 100  $\mu\text{L}$  en “ependorfs” de plástico estériles. Estas orinas fueron centrifugadas previamente al ensayo a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C, aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles de 8-OHdG fueron determinados mediante un inmunoensayo enzimático (ELISA) (New 8-OHdG Check, Jaica) ELISA kit, Japan) que se basa en la técnica “sándwich” o de doble anticuerpo (Fig. 2):

- 1) Incubación durante 1 hora, a 37°C y en agitación, de 50 µL de cada muestra de orina, con 50 µL de un anticuerpo monoclonal anti-8-OHdG, el cual competirá con el anticuerpo monoclonal anti-8-OHdG que se encuentra anclado a la pared de los pocillos de la microplaca.
- 2) Lavado de los pocillos (3 veces) con 250 µL de tampón de lavado.
- 3) Incubación durante 1 hora, a 37°C y en agitación, con 100 µL de anticuerpo secundario conjugado con estreptavidina-peroxidasa.
- 4) Lavado de los pocillos (3 veces) con 250 µL de tampón de lavado, para eliminar el exceso de anticuerpo de detección que no se une al “complejo”.
- 5) Incubación de 15 minutos, a temperatura ambiente y en oscuridad, con 100 µL del conjugado de de 3,3',5,5' tetra metilbencidina (TMB), que se une a la peroxidasa del anticuerpo de detección dando un producto coloreado.
- 6) Adición de 100 µL de “solución de parada” (ácido fosfórico 1M) a la reacción colorimétrica entre la peroxidasa y el TMB, produciendo un cambio de color.
- 7) Cuantificación de la absorbancia en densidades ópticas (DO) a una longitud de onda de 450 nm (longitud de referencia de 620 nm), en un lector de microplacas de longitud de onda dual (*Sunrise*, TECAN, Austria) usando el *software* Magellan (versión 2,5, TECAN, Austria).

Los resultados se obtienen mediante la interpolación de la densidad óptica obtenida para cada muestra en una curva construida a partir de las distintas concentraciones de 8-OHdG sintética. El rango de concentración del ensayo es de 0,5 ng/mL a 200 ng/mL, con un límite de detección de 0,5 ng/mL. La precisión intraensayo media fue 4,9% y la interensayo 6,3%.

#### 1.12. MÉTODO PARA LA DETERMINACIÓN DE PROPÉPTIDO AMINOTERMINAL DEL PROCOLÁGENO TIPO III (PIIINP)

Las muestras de suero fueron descongeladas a 4°C, y alicuotadas en volúmenes de 300 µL en “ependorfs” de plástico estériles. Los sueros fueron

centrifugados previamente al ensayo a 1.300 rpm durante 10 minutos a 4°C aislándose el sobrenadante. Antes del ensayo tanto las muestras como los reactivos estuvieron 30 minutos a temperatura ambiente.

Los niveles de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III (PIIINP) fueron determinados mediante un radioinmunoensayo (RIA) competitivo utilizando el kit UniQ PIIINP RIA, (Espoo, Finlandia *Orion Diagnostica*). El principio del test consiste en que una cantidad conocida de PIIINP marcada radiactivamente ( $I^{125}$ ) y una cantidad desconocida de PIIINP (sin trazador radioactivo) de la muestra compiten por los puntos de unión de alta afinidad del anticuerpo. Después de separar el antígeno libre, la cantidad de PIIINP marcada en la muestra es inversamente proporcional a la cantidad de PIIINP contenida en el suero. Detalles del procedimiento:

- 1) Introducción de 200  $\mu$ L de calibrador, control (valores conocidos), muestra del paciente y totales (para determinar la actividad total del ensayo) en tubos de polipropileno. Además se pipetea cualquier muestra en otro tubo para determinar las uniones no específicas (UNE). Añadir 200  $\mu$ L de *PIIINP RIA tracer* (PIIINP marcado con  $I^{125}$ ) en todos los tubos y seguidamente 200  $\mu$ L de *PIIINP RIA antiserum* (antisuero de conejo) en todos los tubos exceptuando los UNE y los totales. Incubación durante 2 horas a 37°C.
- 2) Incubación de 30 minutos a temperatura ambiente con 500  $\mu$ L del reactivo de separación *Procollagen Separation Reagent* (solución de anticuerpo secundario), excepto en los tubos totales.
- 3) Centrifugación a 4.600 rpm durante 15 minutos a 4°C.
- 4) Decantar los tubos para separar el PIIINP unido al anticuerpo de la parte libre, y eliminar toda la humedad visible para mejorar la precisión del ensayo. Utilizando una gradilla especial, el contenido de todos los tubos (excepto los totales) se deja escurrir durante 2 o 3 minutos. Golpear suavemente los tubos contra papel absorbente para eliminar las gotas residuales.

- 5) Contar la radiación emitida por los tubos durante 1 minuto en un contador de radiación “gamma” (*Cobra Autogamma*, Packard, Downers Gorve I.L).

La obtención de los resultados en términos de concentración ( $\mu\text{g/L}$ ) es a partir de una representación *log-logit* de la curva de calibración. La curva estándar incluye siete tubos de polipropileno con suero humano reconstituido como calibradores: tubo A (unión máxima)  $0 \mu\text{g/L}$  de PIIINP, tubo B con  $1,0 \mu\text{g/L}$ , tubo C con  $2,5 \mu\text{g/L}$ , tubo D con  $5,0 \mu\text{g/L}$ , tubo E con  $10 \mu\text{g/L}$ , tubo F con  $25 \mu\text{g/L}$  y tubo G con  $50 \mu\text{g/L}$ . Primero hay que calcular para cada tubo las cuentas por minuto (CPM) corregidas por las UNE: Cuentas netas = (CPM de cada tubo) – (CPM del tubo UNE)

Después, calcular la unión de cada tubo como un porcentaje de la unión máxima (UM), tomando las cuentas corregidas con el UNE de los tubos A como 100%: Porcentaje de unión =  $[(\text{Cuentas netas})/(\text{Cuentas UM netas})] \times 100$ .

Por último, representar en el eje de las ordenadas el porcentaje de unión frente a la concentración de PIIINP en el eje de las abscisas para cada calibrador no cero y dibujar la línea de tendencia. Los resultados se obtienen por interpolación de los porcentajes de unión en la curva. El rango de medida del ensayo es de  $1,0$  a  $50 \mu\text{g/L}$ , con un límite de detección de  $0,3 \mu\text{g/L}$ . La precisión intraensayo media fue  $4,7\%$  y la interensayo  $6,1\%$ . No interfieren en el ensayo las concentraciones de bilirrubina en suero  $<400 \mu\text{mol/L}$ , hemoglobina  $<5 \text{ g/L}$  y triglicéridos  $<30 \text{ g/L}$ .

## 2. ESTUDIO ECOCARDIOGRÁFICO

La ecocardiografía-Doppler es una técnica no invasiva que permite el estudio morfológico y funcional del corazón basándose en la emisión de ultrasonidos hacia una cavidad de contenido hemático y la recogida del “eco” reflejado por las células sanguíneas (Azpilicueta & García-Fernández 1995). Los equipos de ecocardiografía utilizan para la construcción de la imagen, reflexiones del sonido producidas por los cambios de conductividad acústica de los tejidos biológicos. Las estructuras que típicamente reflejan el sonido son relativamente macroscópicas (cavidades cardíacas, válvulas y vasos).

### 2.1. PACIENTES

Se estudiaron 253 pacientes consecutivos (139 varones y 114 mujeres, con edad media  $60 \pm 13$  años), obtenidos de las consultas externas de cardiología de 11 hospitales españoles. Todos los sujetos estaban diagnosticados de hipertensión esencial según los criterios de la “*European Society of Cardiology*” (ESC) y de la “*American Heart Association*” (AHA) (Guidelines Committee 2003, Chobanian *et al.*, 2003).

Se les realizó un análisis bioquímico y hematológico, electrocardiograma y radiografía de tórax. Cada paciente proporcionó una muestra de orina, se le tomó muestras de sangre, se les midió la tensión arterial sistólica y diastólica y se les realizó un estudio eco-Doppler. Las características clínicas más relevantes se muestran en la Tabla 1 (Apartado 1.1).

Los pacientes se encontraban bajo tratamiento médico estable, siguiendo las guías de la ESC y de la AHA (Guidelines Committee 2003, Chobanian *et al.*, 2003), al menos 2 meses antes de su inclusión en el estudio.

Los pacientes fueron seguidos durante un periodo de 24 meses, con tres fases de obtención de muestras y recopilación de datos: basal, 12 meses después y a los 24 meses. En cada una de las fases los pacientes eran citados en las consultas externas de cardiología de su hospital, donde se chequeaban sus síntomas, medicación, eventos cardíacos (ingresos o visitas a urgencias, ambos de origen cardíaco), se tomaban muestras de sangre, se recogían las muestras de orina y se realizaba un estudio eco-Doppler.

Se excluyeron los pacientes con hipertensión secundaria, fracción de eyección menor de 50%, cardiopatía isquémica, dilatada o valvular, fibrilación auricular, síndrome coronario agudo, enfermedades crónicas, enfermedad renal y hepática crónica o aguda, enfermedades inmunológicas, alcoholismo y adicción a drogas.

El procedimiento fue aprobado por los comités éticos de revisión de cada centro hospitalario participante, y el estudio se realizó de conformidad con las líneas directivas de la buena práctica clínica y las normas éticas para la experimentación humana establecidas por la Declaración de Helsinki (Rickham 1964). Cada paciente dio su consentimiento informado por escrito para su inclusión en este estudio.

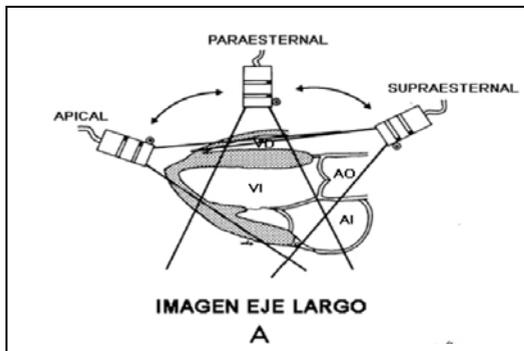
## 2.2. OBTENCIÓN IMÁGENES ECO-DOPPLER

El estudio se realizó por medio de sistemas ecocardiográficos estándar equipados con transductores 2,5-4 MHz utilizados en la práctica clínica habitual de los once hospitales involucrados en el estudio. Las imágenes bidimensionales, “espectro Doppler” y “Doppler color” se obtuvieron siguiendo un protocolo común y se grabaron en vídeo para su posterior análisis de manera centralizada en el Centro de Investigación del Hospital Universitario La Fe, minimizándose de esta manera la posible variabilidad en la obtención y análisis de las imágenes. Todos los registros fueron analizados por un único facultativo especialista para reducir la variabilidad interobservador, mediante un sistema informatizado (*Eco-Dat; Software Medicina S.A., Madrid*), y de manera ciega al resto de determinaciones. Para cada paciente, se midieron cuatro ciclos consecutivos y se calculó el promedio para cada variable.

El registro ecocardiográfico estándar se realizó, según el protocolo, con el técnico a la izquierda o a la derecha del paciente, elevando la cabecera del paciente unos 20-30°. Todas las medidas se realizaron durante apnea respiratoria. Se comenzó el estudio con el paciente en decúbito lateral izquierdo para poder obtener los planos paraesternales y apicales. Posteriormente se colocó al paciente en decúbito supino para poder obtener los planos subcostales y supraesternales.

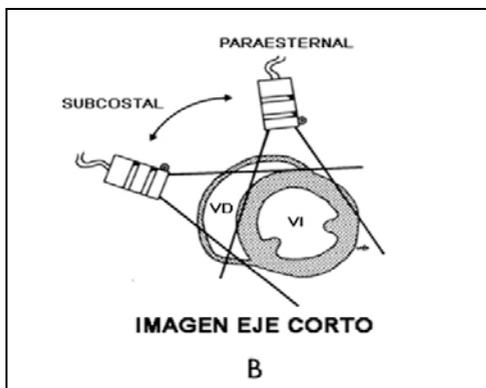
Existen tres planos ortogonales que se usan para describir las imágenes obtenidas del corazón mediante ecocardiografía en dos dimensiones:

- Imagen de eje largo: Es el plano de imagen que cruza el corazón de forma perpendicular a las superficies dorsal y ventral del cuerpo, paralelamente al eje largo del corazón. Esta imagen puede obtenerse de una localización del transductor apical, paraesternal o supraesternal (Fig. 3).



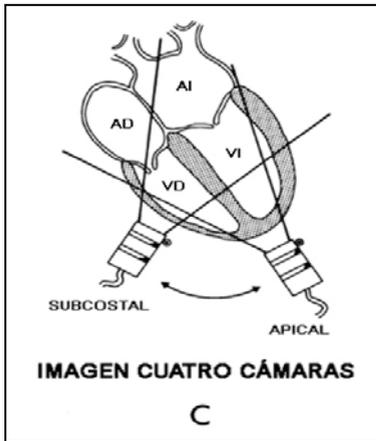
**Figura 3.** Esquema de la orientación que se emplea con el transductor para la obtención de una imagen eje largo. El transductor está siempre dirigido hacia la cabeza o el lado izquierdo del paciente. (Modificada de: Henry *et al.*, *Circulation* 1980; 62:212-7).

- Imagen de eje corto: Es el plano que cruza el corazón perpendicularmente a las superficies dorsal y ventral del cuerpo, pero perpendicular al eje largo del corazón. Esta imagen puede obtenerse de una localización del transductor paraesternal o subcostal (Fig. 4).



**Figura 4.** Esquema de la orientación que se emplea con el transductor para la obtención de una imagen eje corto. El transductor está siempre dirigido hacia la cabeza o el lado izquierdo del paciente. (Modificada de: Henry *et al.*, *Circulation* 1980; 62:212-7).

- Imagen de cuatro cámaras: El plano que cruza el corazón. Puede obtenerse con el transductor localizado en una posición apical o subcostal (Fig. 5).



**Figura 5.** Esquema de la orientación que se emplea con el transductor para la obtención de cuatro cámaras. El transductor está siempre dirigido hacia la cabeza o el lado izquierdo del paciente. (Modificada de: Henry *et al.*, *Circulation* 1980; 62:212-7).

## 2.3. PARÁMETROS DE FUNCIÓN VENTRICULAR

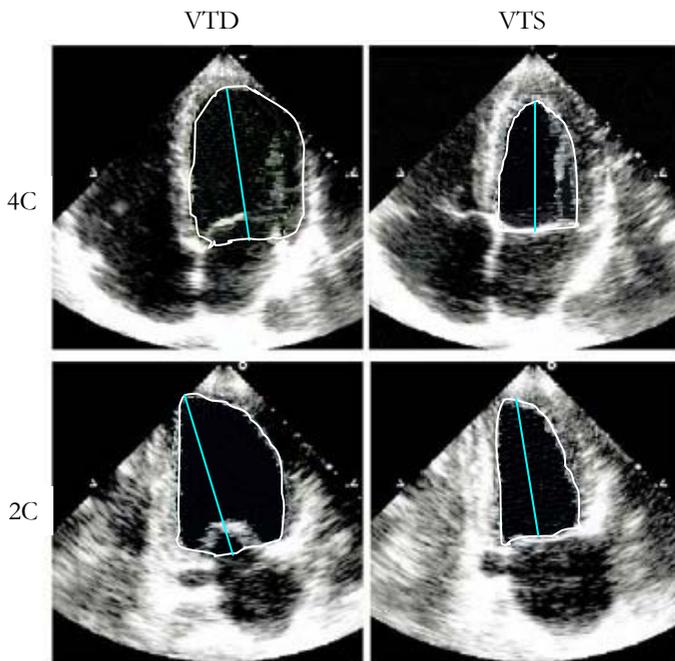
### 2.3.1. Función sistólica del ventrículo izquierdo

La ecocardiografía bidimensional representa la imagen de referencia del estudio ecocardiográfico a partir de la cual, obtenemos los demás tipos de registro. Mediante esta técnica ecocardiográfica pudimos estudiar la anatomía cardíaca en movimiento y la función ventricular. Este estudio se realizó colocando el transductor en diferentes puntos del paciente, lo que nos permitió obtener diferentes planos. Los índices de volúmenes telesistólico, teliastólico y la fracción de eyección son calculados por métodos no invasivos que utilizan asunciones geométricas (Schiller *et al.*, 1989).

□ Los volúmenes del ventrículo izquierdo se obtuvieron mediante ecocardiografía bidimensional y se calcularon mediante el método “área-longitud” biplano, donde se asume que el VI tiene una forma de bala (Schiller *et al.*, 1989). El área y la longitud del VI son estimados por planimetría desde el punto medio del anillo hasta el ápex en una imagen apical de 4 cámaras (Fig. 6). Estas medidas son repetidas al final de la diástole y al final de la sístole.

El volumen telesistólico (VTS) y telediastólico (VTD) son calculados por el método descrito previamente y la fracción de eyección (FE) como:

$$FE = [(VTD - VTS)/VTD] \times 100$$



**Figura 6.** Medidas en dos dimensiones para el cálculo del volumen del ventrículo izquierdo mediante el método área-longitud en proyección apical de 4 cámaras (4C) y 2 cámaras (2C) al final de la diástole (VTD) y al final de la sístole (VTS). Se excluyen los músculos papilares en el registro. La línea blanca delimita el área del ventrículo izquierdo y la recta azul la longitud. (Modificada de: Lang *et al.*, *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1440-63).

### 2.3.2. **Función diastólica del ventrículo izquierdo**

La determinación de la función diastólica es importante en ensayos clínicos sobre hipertensión e insuficiencia cardiaca con función sistólica preservada, así como también en estudios epidemiológicos. Actualmente, una multitud de parámetros Doppler han sido empleados para evaluar la función diastólica. Las recomendaciones de cómo grabar y medir estos parámetros fueron publicadas en 2002 por la Sociedad Americana de Ecocardiografía (Quiñones *et al.*, 2002).

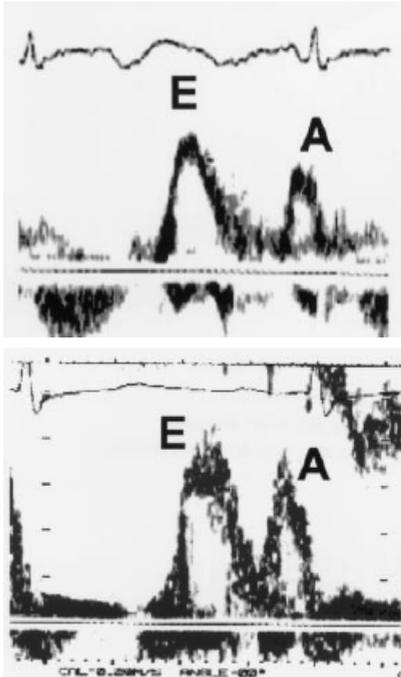
□ Velocidades máximas absolutas como la velocidad de llenado temprano, la velocidad de llenado tardío, intervalo de tiempo de deceleración de la onda E y tiempo de relajación isovolumétrica.

El “Doppler pulsado” se aplica a la medición de flujos sanguíneos mediante la emisión de ultrasonidos hacia una cavidad cardiaca y la recepción del sonido reflejado por las células sanguíneas. Con este método el mismo transductor emite y recibe alternativamente, teniendo un tiempo para la emisión y otro para la recepción, lo que se conoce como “modo pulsado”. Se usó en combinación con la imagen bidimensional para la obtención de trazados dentro de zonas concretas del corazón. Una de las medidas que se derivan de estos trazados son las velocidades de flujo transmitral, parámetros de función diastólica que reflejan cambios en el flujo sanguíneo en el corazón.

El lugar de medida fue el anillo mitral, al nivel de la punta de las valvas. El flujo transmitral que pasa a través de esta zona se calculó como el producto de la integral velocidad-tiempo y el área transversal de la zona. Las velocidades fueron la media de 3-5 ciclos cardiacos en pacientes en ritmo sinusal.

La Figura 7 muestra el patrón típico para pacientes normales en ritmo cardíaco sinusal (imagen superior). Una primera onda que se propaga desde la aurícula izquierda hasta el ápex del VI se corresponde con la velocidad de llenado temprano (onda E) y una segunda onda sigue a la contracción auricular, que se corresponde con la velocidad de llenado tardío (onda A). La magnitud de esas velocidades es máxima en la punta de las valvas mitrales y decrecen a medida que el flujo se aproxima al ápex. El tiempo de deceleración (TD) de la onda E desde las valvas hasta el ápex es otro índice consolidado de llenado, así como el cociente entre ambas ondas (E/A) que se usa como índice del patrón

de llenado del ventrículo izquierdo. El tiempo de relajación isovolumétrica (IVRT) se utiliza como medida de la etapa de relajación y es el tiempo transcurrido entre el cese del flujo aórtico y el inicio del flujo mitral.



**Figura 7.** Flujo transmitral mediante “Doppler pulsado” grabado al nivel de la pared lateral basal en voluntarios sanos (imagen superior) y en pacientes con una estenosis aórtica severa, hipertrofia ventricular izquierda, y presiones de llenado elevadas (imagen inferior). A: velocidad de llenado tardío; E: velocidad de llenado temprano del ventrículo izquierdo. (Extraída de: García *et al.*, *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:865-75).

Uno de los factores técnicos más importante para asegurar la exactitud de la medida es elegir el sitio donde el área se mantenga constante durante el periodo de paso de flujo, y así se pueda determinar con exactitud en la imagen bidimensional, y donde el flujo sea lo más plano posible. Por otro lado, la exactitud en las medidas de las velocidades del flujo en el VI mediante “Doppler pulsado” depende de la orientación paralela entre el transductor y el flujo de la sangre. Pequeñas desviaciones en el ángulo ( $<20^\circ$ ) producen errores moderados en la medida de las velocidades ( $<10\%$ ) (Quiñones *et al.*, 2002).

La disfunción diastólica se estima frecuentemente mediante el patrón de la velocidad de flujo transmitral, donde el cociente E/A es el índice más empleado. En los ventrículos normales, la posición espacial de la velocidad máxima es cercana al ápex ventricular para la onda E más que para la onda A, sugiriendo que los gradientes de la presión intraventricular durante la fase de llenado temprano producen una fuerza de succión que acelera el flujo hacia el orificio mitral (Courtois & Ludbrook 1994). Sin embargo, existen ciertas limitaciones relacionadas con sus rangos en sujetos sanos y su distribución en pacientes con IC (Lang *et al.*, 2005)

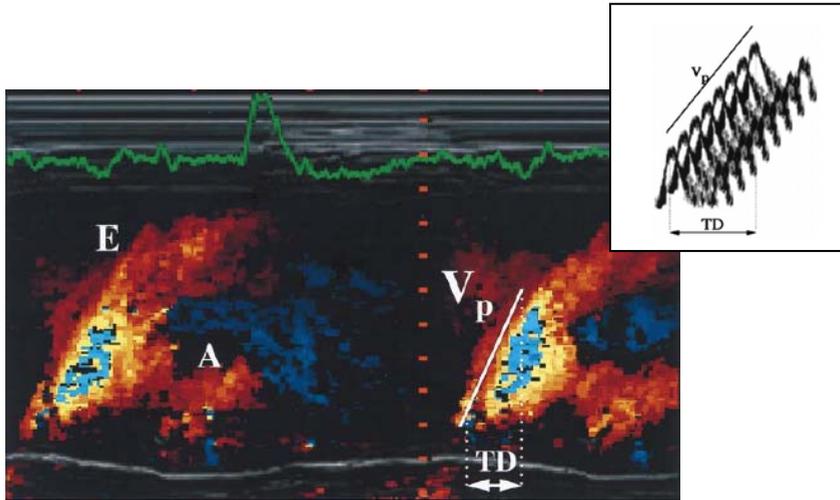
□ Medida de la velocidad de propagación del flujo transmitral ( $V_p$ ) en el ventrículo izquierdo.

Varios estudios clínicos muestran una asociación entre las anomalías en la relajación del VI y los patrones específicos de la velocidad de propagación en Doppler transmitral. La ecocardiografía “Doppler color en modo-M” codifica en color las distintas velocidades registradas dentro del corazón, de color rojo el flujo que se acerca al transductor y de color azul la que se aleja, proporcionando una distribución espacio temporal de esas velocidades a través de una línea vertical. Así, la información que se observa en una grabación “Doppler color en modo-M” del flujo en el ventrículo izquierdo es comparable a múltiples trazados simultáneos de “Doppler pulsado”, obtenidos a diferentes niveles desde válvula mitral hasta el ápex del VI (Thomas *et al.*, 1996).

Uno de los parámetros que determinamos mediante esta técnica es la velocidad a la cual el flujo se propaga dentro del ventrículo, dada por la pendiente que conecta la línea de isovelocidad desde la punta de las valvas mitrales hasta la región apical del ventrículo y que se conoce como velocidad de propagación del flujo transmitral ( $V_p$ ) (Fig. 8).

Para obtener la imagen “Doppler color en modo-M”, el cursor se situó en el centro de la región del flujo mitral en una vista apical de 4 cámaras. Se podría desplazar el transductor hacia la pared lateral si se necesitase poner la línea de modo-M paralela a la dirección del flujo observado en Doppler color.

La profundidad se ajustó para incluir todo el ventrículo izquierdo desde la punta de las valvas mitrales al ápex.



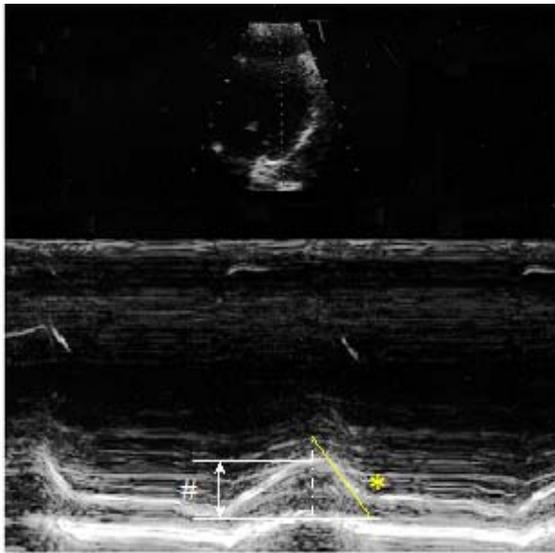
**Figura 8.** Trazado en modo-M color del flujo en el ventrículo izquierdo mostrando la onda de llenado temprano (onda E), la onda de contracción auricular (onda A), la velocidad de propagación del flujo transmitral ( $V_p$ ) y el tiempo de deceleración (TD). (Extraída de: García *et al.*, *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:865-75).

En contraste con los índices de llenado Doppler estándares (onda E, onda A y el cociente E/A), que muestran una distribución típica en “forma de U” desde un patrón normal de relajación a uno pseudonormal o retrasado, se sugiere que la  $V_p$  es relativamente independiente de la precarga (Takatsuji *et al.*, 1996), mostrando un patrón de descenso en los dos últimos grupos. Esta circunstancia la convertiría en un índice más sensible de la función diastólica.

□ Desplazamiento del plano aurículoventricular (DPAV) y velocidad máxima de relajación (RVm)

El desplazamiento del plano aurículoventricular (DPAV) se determinó mediante ecocardiografía en modo M, a partir de una proyección apical bidimensional de 2 cámaras para la medida en la región anterior y posterior, y en proyección de 4 cámaras para la región septal y lateral, con la técnica

descrita previamente (Willenheimer 1997) (Fig. 9). La región del DPAV fue la distancia cubierta por el plano aurículoventricular entre la posición más lejana del ápex (correspondiente al inicio de la contracción) y la posición más cercana al ápex (correspondiente al final de la contracción, incluyendo el acortamiento posteyección). Se calculó la media del DPAV en las cuatro regiones (Willenheimer *et al.*, 1998). La variabilidad intraobservador fue de 3%.



**Figura 9.** Registro del desplazamiento del plano aurículoventricular (DPAV) mediante ecocardiografía bidimensional en modo M. Se sitúa el transductor en la región lateral del plano perpendicular a la dirección del movimiento (arriba), permitiéndonos el registro en modo M del desplazamiento mediante una proyección de 4 cámaras (abajo). La distancia vertical entre el punto del plano más distante del ápex y el punto más cercano al ápex es medida en modo M (#). La inclinación de la línea recta muestra la velocidad máxima (RVm) ascendente del DPAV

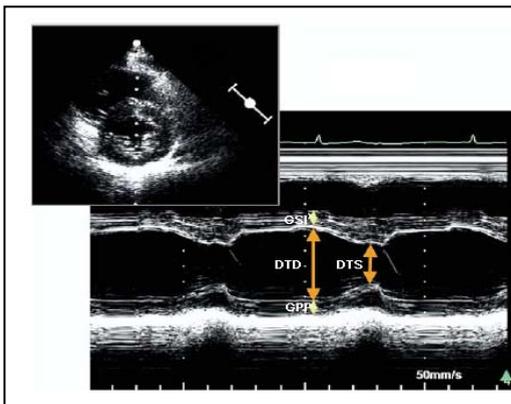
La velocidad máxima de relajación (RVm) es un parámetro sencillo que se define como la velocidad máxima del DPAV hacia la base del corazón durante la fase de llenado temprano. Se determinó mediante registro en modo M del DPAV ascendente. Se identificó la porción en meseta y dos “calipers = pies de rey” se colocaron tangencialmente a la curva. La inclinación de la recta muestra la velocidad máxima ascendente (mm/seg) del DPAV durante la fase

temprana de la diástole (Fig. 9). Se registraron las velocidades máximas ascendentes en las regiones septal, lateral, posterior, y anterior del DPAV, reflejando las velocidades máximas longitudinales de relajación del ventrículo izquierdo. La RVm se calculó como la media de las velocidades máximas en las cuatro regiones. La variabilidad intraobservador fue 7%.

### 2.3.3. Masa del ventrículo izquierdo

La mayoría de cálculos de la masa del VI han sido realizados usando medidas lineales derivadas de la ecocardiografía bidimensional en modo-M, o más recientemente de medidas lineales del VI en dos dimensiones (Ilercil *et al.*, 2001). En nuestro estudio se calculó según el modelo de Devereux y col. (1996), recomendado por la “Asociación Americana de Ecocardiografía” (validadas con necropsias  $r=0,90$ ,  $p<0,001$ ) y considerando el VI como una elipse de revolución (Fig. 10):

$$\text{Masa del VI} = 0,8 \times [1,04 \times (\text{LVIDD} + \text{GSI} + \text{GPP})^3 - (\text{LVIDD})^3] + 0,6$$



**Figura 10.** Medida del diámetro telediastólico (DTD) y telesistólico (DTS) en modo-M, guiado por imagen paraesternal de eje corto (panel superior) para optimizar la orientación del transductor. (Modificada de: Lang *et al.*, *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1440-1463).

Donde GPP, GSI y DDVI son grosor de pared posterior, grosor del septo interventricular y diámetro del VI al final de la diástole. Para obtener las

medidas exactas de estos parámetros, las grabaciones en modo-M se hicieron desde una vista paraesternal de eje corto, en la punta de las valvas de la válvula mitral, por lo que el transductor se situó perpendicular al septo y pared posterior del VI.

Todos los algoritmos de cálculo de la masa del VI, tanto si se usa modo-M, eco bidimensional o en tres dimensiones están basados en la sustracción del volumen de la cavidad interna del VI del volumen encerrado por el pericardio del VI, obteniéndose el volumen del músculo cardíaco del VI. Este volumen es convertido después en masa multiplicando por la densidad miocárdica. Para la cuantificación de la masa del VI se requiere identificar las interfases entre la sangre cardíaca y el endocardio, y entre el epicardio y el pericardio.

#### 2.4. VALORES DE REFERENCIA

Las dimensiones intracardiacas están relacionadas con el tamaño corporal, y en las personas con un tamaño que se sale de lo normal (obesos) puede resultar difícil distinguir si la dimensión de una cavidad está dentro del rango de la normalidad. Es tradicional clasificar estas dimensiones con respecto a la superficie corporal (SC) en metros cuadrados (Tabla 2).

Sin embargo, existen evidencias de que algunas dimensiones guardan más relación con la talla (Nidorf *et al.*, 1992). Un ejemplo claro de esto es el cálculo del índice de masa del ventrículo izquierdo, ya que aunque el índice por la superficie corporal ha sido el más utilizado en la gran mayoría de ensayos clínicos (considerándose hipertrofia un IMVI mayor de  $125 \text{ g/m}^2$ , o si se tiene en cuenta el género  $104 \text{ g/m}^2$  en mujeres y  $116 \text{ g/m}^2$  en varones), se ha visto que este método subestima la prevalencia de hipertrofia en individuos obesos, en los cuales la masa ventricular debe ajustarse por la altura elevada a  $2,7$  (considerándose hipertrofia a partir de  $46,7 \text{ g/m}^{2,7}$  en mujeres y a partir de  $49,2 \text{ g/m}^{2,7}$  en varones) (Lang *et al.*, 2005). El mejor método para normalizar las medidas de la masa ventricular sigue siendo debatido, es decir no existe un consenso definitivo para la indexación de la masa del ventrículo izquierdo.

En nuestro estudio utilizamos el índice de masa del ventrículo izquierdo normalizado por la talla para clasificar a los sujetos hipertensos en hipertróficos

y no hipertróficos, ya que tuvimos en cuenta que el 43% de los pacientes eran obesos. Sin embargo, únicamente para el subestudio de NT-proBNP y su relación con la hipertrofia ventricular izquierda, utilizamos la masa del ventrículo izquierdo indexada por la superficie corporal, ya que en los estudios previos sobre hipertensión y BNP o NT-proBNP se ha seguido este criterio para establecer la hipertrofia y de esta forma podemos comparar de manera más precisa nuestros resultados con los ya publicados en la literatura por otros autores (Rivera *et al.*, 2004, Goetze *et al.*, 2006, Belluardo *et al.*, 2006).

**Tabla 2.** Valores de referencia de las dimensiones intracardíacas del ventrículo izquierdo según género y ajustadas por la superficie corporal, obtenidas mediante ecobidimensional.

Variables	Rango normalidad	
	Varones	Mujeres
Diámetro diastólico del VI (DTD) (mm)	42 – 59	39 – 53
Diámetro diastólico del VI/SC (mm/m <sup>2</sup> )	22 – 31	24 – 32
Diámetro sistólico del VI (DTS) (mm)	26 – 40	23 – 35
Área en diástole del VI (cm <sup>2</sup> )	18,6 – 48,6	
Área en sístole del VI (cm <sup>2</sup> )	8,6 – 30,4	
Volumen telediastólico del VI (VTD) (mL)	67 - 155	56 – 104
Volumen telediastólico/SC (ml/m <sup>2</sup> )	35 - 75	35 - 75
Volumen telesistólico del VI (VTS) (mL)	22 - 58	
Volumen telesistólico/SC (ml/m <sup>2</sup> )	12 - 30	
Fracción de eyección (FE) (%)	≥ 55	
Desplazamiento del plano aurículoventricular (DPAV) (mm)	≥ 10	
Grosor septo interventricular (GSI) (diástole) (mm)	6 – 10	6 – 9
Grosor pared posterior (GPP) (diástole) (mm)	6 – 10	6 – 9
Masa del VI (g)	88 - 224	67 - 162
Índice de masa del VI (g/m <sup>2,7</sup> )	<49,2	<46,7
Índice de masa del VI (g/m <sup>2</sup> )	<116	<104

SC: superficie corporal; VI: ventrículo izquierdo. (Modificada de: Schiller *et al.* *Am Soc Echocardiogr* 1989; 2:358-67; Lang *et al.*, *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18:1440-63; Willenheimer R. *Scand Cardiovasc J* 1998; 48:1-31).

### 3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los valores se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar (DS) para las variables continuas con distribución normal y los valores de las variables continuas con distribución no paramétrica son expresados como mediana y rango intercuartílico. Las variables discretas se expresan como porcentaje. La normalidad de las variables se evaluó mediante el test de *Kolmogorov-Smirnov*. La comparación de medias de dos grupos de variables continuas que mostraron una distribución normal se realizó mediante la prueba estadística *t-Student*, mientras que se empleó el test *U de Mann-Whitney* para las variables no normales. Al comparar las medias de tres o más grupos se empleó el test *ANOVA* o *Kruskal-Wallis* según las variables tuviesen una distribución normal o no. Se empleó el test *exacto de Fisher* para la comparación de variables categóricas.

Para estudiar la relación simple existente entre dos variables se realizó un análisis de regresión simple, utilizando como coeficientes de correlación ( $r$ ) el de *Pearson* o *Spearman*, dependiendo de la normalidad de las variables. Posteriormente se analizó la influencia de varias variables independientes (covariables) sobre una variable dependiente, mediante el análisis de regresión múltiple, eligiéndose como mejor modelo el que presentó la “ $r^2$ ” más elevada. Además, también se realizaron análisis de regresión binaria donde se utilizó como marcador de riesgo relativo la “*odds-ratio*”.

La sensibilidad (ss), especificidad (sp), valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) de los niveles de marcadores bioquímicos estudiados en el diagnóstico de la hipertrofia ventricular izquierda, se establecieron mediante la construcción de curvas ROC (“*Receiver Operating Characteristic Curves*”).

Para analizar la concordancia de los niveles de NT-proBNP en suero en dos intervalos de tiempo diferentes (basal; 12 meses o fase I; y 24 meses o fase II), se utilizó el método de *Bland & Altman*, 1986. Representando el porcentaje de cambio de las medias [(NT-proBNP en la fase I – NT-proBNP en basal) / (media NT-proBNP en fase I + media NT-proBNP en basal)] frente la media de las determinaciones de NT-proBNP en las dos fases. Este modelo de *Bland & Altman* es útil para normalizar y comparar los datos sin tener en cuenta la

magnitud de la medida de NT-proBNP. Basándose en esta aproximación, se determinaron los límites de concordancia por la diferencia de la media más o menos el coeficiente de reproducibilidad (CR), donde este se calculó como  $1,96 \times DS$  del porcentaje de cambio. En este caso, un CR alto indica una baja reproducibilidad.

Se consideró estadísticamente significativo un “p valor” menor de 0,05 para todos los modelos. Todos los análisis estadísticos se realizaron mediante el programa estadístico SPSS 10,1 (*“Statistical Package for Social Sciences”, SPSS Inc., Chicago, Illinois*).

## IV. RESULTADOS

# 1. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

Se estudiaron 252 pacientes hipertensos asintomáticos (edad  $60 \pm 13$  años, 54% varones). Las características clínicas de la población estudiada de acuerdo con la presencia de hipertrofia, se muestran en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Características de los pacientes hipertensos (n=252).

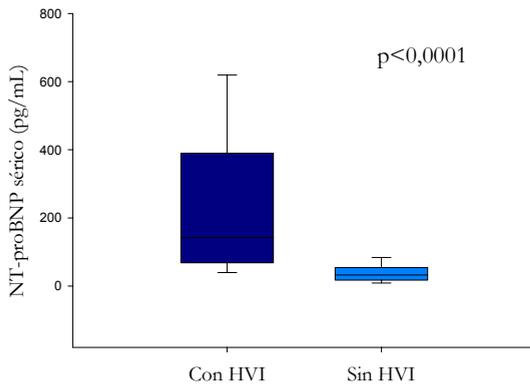
Variable	Con HVI (n=104)	Sin HVI (n=148)	p Valor
Edad (años)	65 ± 13	55 ± 12	< 0,0001
Género (varones %)	50	57	0,31
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	154 ± 23	145 ± 18	< 0,0001
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	87 ± 10	88 ± 12	0,49
Presión de pulso (mm Hg)	67 ± 20	57 ± 15	< 0,0001
Frecuencia cardiaca (lpm)	69 ± 13	72 ± 12	0,12
Filtrado glomerular renal (mL./min/1,73 m <sup>2</sup> )	90 ± 53	95 ± 23	0,01
Perímetro de cintura (cm)	110 ± 11	99 ± 10	0,23
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	30 ± 5	29 ± 4	0,12
Diabetes mellitus (%)	19	16	0,50
Tiempo evolución de la hipertensión (meses)	116 ± 116	68 ± 70	0,001
Parámetros ecocardiográficos:			
Fracción de eyección (%)	59 ± 5	59 ± 5	0,45
E/A	0,85 ± 0,24	0,94 ± 0,24	0,001
Vp (cm/s)	41 ± 8	53 ± 10	< 0,0001
TD(ms)	215 ± 42	187 ± 28	< 0,0001
IVRT (ms)	97,62 ± 8,03	92,09 ± 5,50	< 0,0001
IMVI (g/m <sup>2</sup> )	149 ± 25	109 ± 12	< 0,0001
IVTS (mL/m <sup>2</sup> )	26 ± 7	23 ± 6	< 0,0001
IVTD (mL/m <sup>2</sup> )	63 ± 14	55 ± 13	< 0,0001
GSID (mm)	12,7 ± 0,1	11,3 ± 0,09	< 0,0001
GPPD (mm)	12,3 ± 0,1	11,2 ± 0,08	< 0,0001
DPAV (mm)	12,10 ± 1,11	12,38 ± 1,03	0,044

Los datos son presentados como media ± desviación estándar o como porcentaje de sujetos. DPAV, desplazamiento del plano auriculoventricular; E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; GPPD, grosor de pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole; GSID, grosor del septo interventricular en diástole; HVI, hipertrofia ventricular izquierda; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; IVTS, índice de volumen telesistólico; IVTD, índice de volumen telediastólico; TD, tiempo de deceleración; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

Estos pacientes recibían tratamiento médico estable: el 50% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), 44% con diuréticos,

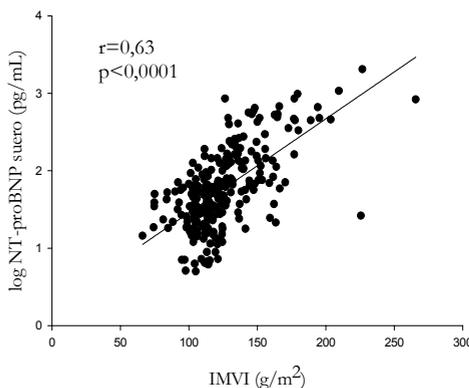
32% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), 21% con bloqueadores beta, 19% con calcioantagonistas y 26% con estatinas.

Al comparar los niveles de NT-proBNP en suero entre los pacientes hipertensos con hipertrofia del ventrículo izquierdo (n=104) y los pacientes sin hipertrofia (n=148), obtuvimos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (mediana 142 (68 – 389) pg/mL vs. mediana 32 (17 – 54) pg/mL,  $p < 0,0001$ ) (Fig 1). Cuando comparamos los niveles del péptido entre pacientes hipertensos sin hipertrofia y el grupo control (n=43), no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (mediana 42 (17 – 54) pg/mL vs. mediana 41 (24 – 53) pg/mL,  $p = 0,24$ ).



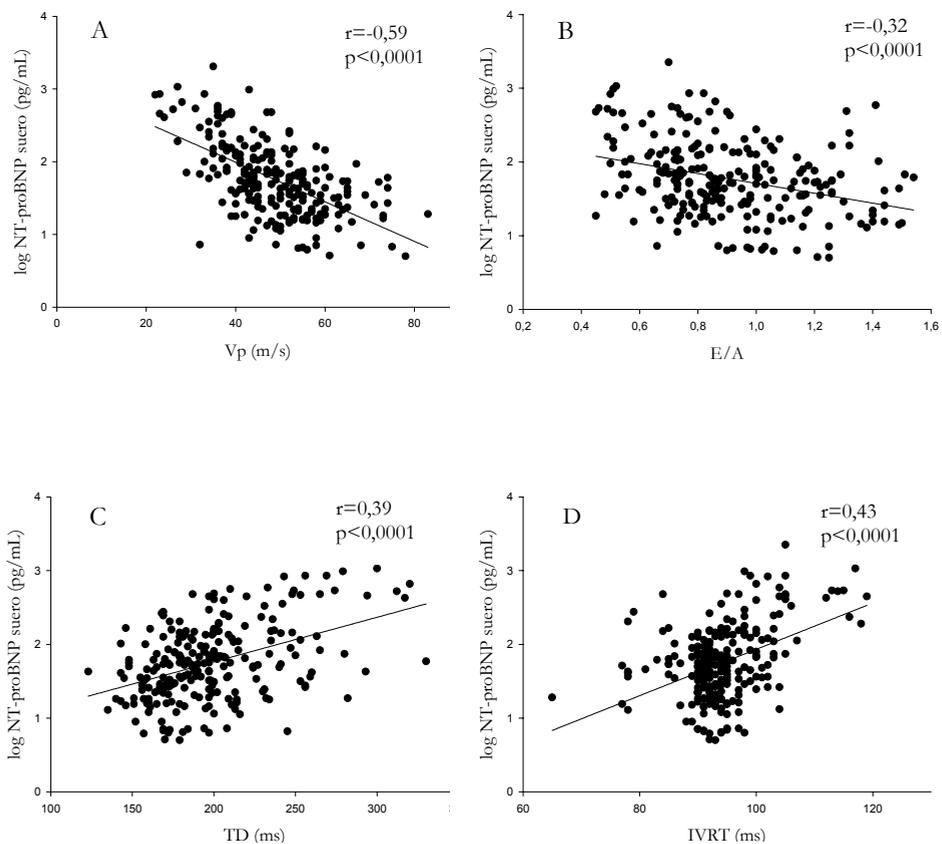
**Figura 1.** Niveles de NT-proBNP en suero entre pacientes hipertensos con hipertrofia del ventrículo izquierdo (n=104) y pacientes sin hipertrofia (n=148). Las cajas muestran la mediana (línea horizontal), rango intercuartílico (límites superior e inferior de las cajas), y el percentil 5 y 95 (barras de error).

Los niveles séricos de NT-proBNP se transformaron logarítmicamente para correlacionarlos con el índice de masa del ventrículo izquierdo, se obtuvo una correlación estadísticamente significativa ( $r = 0,63$ ,  $p < 0,0001$ ) (Fig. 2).



**Figura 2.** Correlación entre los niveles de NT-proBNP en suero transformados logarítmicamente y el índice de masa del ventrículo izquierdo (n=252).

Además, se correlacionaron los niveles séricos de NT-proBNP transformados logarítmicamente con diferentes parámetros de función ventricular diastólica, como la velocidad de propagación del flujo mitral (Vp), el ratio E/A, el tiempo de deceleración (TD) y el índice de relajación isovolumétrica (IVRT) (Fig. 3). Se obtuvo en todos los casos una correlación estadísticamente significativa ( $r=-0,59$ ,  $p<0,0001$ ;  $r=-0,32$ ,  $p<0,0001$ ;  $r=0,39$ ,  $p<0,0001$  y  $r=0,43$ ,  $p<0,0001$ ; respectivamente).



**Figura 3.** Correlación entre los niveles de NT-proBNP en suero, transformados logarítmicamente, y parámetros de función ventricular: velocidad de propagación del flujo mitral (A), ratio E/A (B), tiempo de deceleración (C) y el tiempo de relajación isovolumétrica (D) (n=252).

Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar la influencia de distintas variables sobre los niveles séricos de NT-proBNP normalizados logarítmicamente, en el grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda (Tabla 2). Se identificó el género, la velocidad de propagación del flujo mitral, el índice de masa del ventrículo izquierdo y los bloqueadores beta, como factores predictores independientes de los niveles de NT-proBNP en suero, con una  $r^2$  de 0,79 ( $p < 0,0001$ ). La edad mostró una fuerte tendencia ( $p = 0,055$ ).

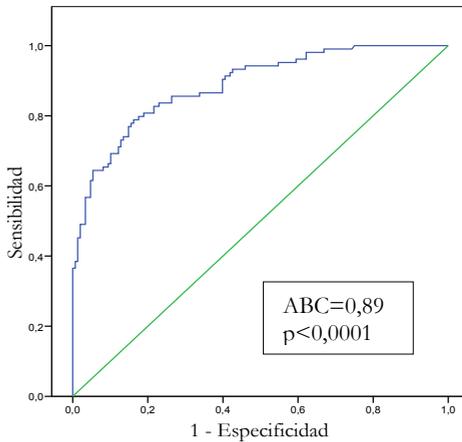
**Tabla 2.** Análisis de regresión lineal múltiple para la detección de factores independientes de los niveles de NT-proBNP en suero transformado logarítmicamente, en pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda ( $n=104$ ).

Variable	B	ES	P valor
Edad	5,377	2,678	0,055
Género	-136,947	51,165	<b>0,013</b>
TAS	0,171	1,052	0,872
FC	0,998	2,094	0,638
FGR	0,064	0,310	0,838
Diabetes	-23,354	60,420	0,702
Perímetro de cintura	4,769	3,615	0,199
IMC	-4,917	7,946	0,541
E/A	109,831	127,234	0,396
Vp	-11,63	3,267	<b>0,001</b>
IMVI	2,440	0,847	<b>0,008</b>
ARA II	-77,967	60,947	0,212
Diuréticos	-18,851	51,480	0,717
IECAs	-34,956	58,929	0,558
Bloqueadores beta	211,954	49,404	<b>0,0001</b>

$r^2 = 0,79$  ( $p < 0,0001$ ). ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; E/A, velocidad máxima tardía del flujo transmitral/velocidad máxima temprana del flujo transmitral; FC, frecuencia cardiaca; FGR, filtrado glomerular renal; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC, índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; TAS, tensión arterial sistólica; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

Al analizar la utilidad de NT-proBNP en suero para detectar hipertrofia ventricular izquierda mediante una curva ROC, se obtuvo un área bajo la curva (ABC) de 0,89 ( $p < 0,0001$ ), con un punto de corte óptimo de 39,83 pg/mL

(sensibilidad 90%, especificidad 60%, valor predictivo positivo 61% y valor predictivo negativo 90%) (Fig. 4).



**Figura 4.** Curva ROC para la detección de hipertrofia ventricular izquierda de las concentraciones séricas de NT-proBNP en sujetos con hipertensión esencial (n=252).

Finalmente, al realizar una regresión logística para identificar los factores predictores de los niveles de NT-proBNP en suero por encima de 40 pg/mL, mostramos que la edad con una *odds ratio*=1,04 ( $p=0,017$ ), el género con una *odds ratio*=0,34 ( $p=0,001$ ) y el índice de masa del ventrículo izquierdo con una *odds ratio*=11,3 ( $p=0,0001$ ) fueron predictores independientes de los niveles de NT-proBNP sérico. Las demás variables (TAS, filtrado glomerular renal, frecuencia cardiaca, ratio E/A e índice de masa corporal) no alcanzaron significación estadística (Tabla 3).

**Tabla 3.** Análisis de regresión logística de los niveles de NT-proBNP sérico por encima de 40 pg/mL en pacientes con hipertensión esencial (n=252).

Variable	OR (IC 95%)	p Valor
Edad, por 1 año	1,04 (1,0 – 1,1)	0,017
Género (ref. varón)	0,34 (0,2 – 0,8)	0,001
TAS, por 1 mmHg	1,00 (0,9 – 1,0)	0,99
FGR, por mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	0,99 (0,9 – 1,0)	0,37
FC, por 1 lpm	1,01 (0,9 – 1,0)	0,71
E/A, por 1 unidad	1,36 (0,2 – 7,8)	0,73
IMVI $\geq 125$ g/m <sup>2</sup>	11,3 (4,8 – 26,6)	0,0001
IMC $\geq 30$ kg/m <sup>2</sup>	0,71 (0,3 – 1,5)	0,37

E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; FC, frecuencia cardiaca; FGR, filtrado glomerular renal, IC, intervalo de confianza; IMC, índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; TAS, tensión arterial sistólica.

## 2. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD

Se estudiaron 252 pacientes hipertensos asintomáticos (edad  $60 \pm 13$  años, 54% varones). Las características clínicas de la población incluida en este estudio, en relación con la obesidad (índice de masa corporal  $> 30 \text{ Kg/m}^2$ ), se muestran en la Tabla 4.

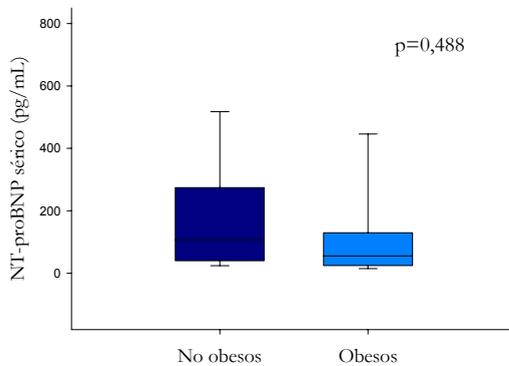
**Tabla 4.** Características de los pacientes hipertensos (n=252).

Variable	No obesos (n=143)	Obesos (n=109)	p Valor
Edad (años)	$58 \pm 13$	$62 \pm 14$	0,03
Género (varones %)	57	50	0,25
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	$147 \pm 19$	$150 \pm 22$	0,29
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	$87 \pm 11$	$88 \pm 12$	0,49
Presión de pulso (mm Hg)	$61 \pm 17$	$62 \pm 19$	0,44
Colesterol total (mg/dL)	$211 \pm 36$	$215 \pm 37$	0,46
Na (mEq/L)	$141 \pm 3$	$140 \pm 5$	0,41
Filtrado glomerular renal (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	$95 \pm 46$	$90 \pm 24$	0,35
Hemoglobina (mg/dL)	$14 \pm 1,3$	$14 \pm 1$	0,19
Diabetes mellitus (%)	16	19	0,50
Fumadores (%)	17	20	0,59
Medidas antropométricas:			
Peso (kg)	$74 \pm 10$	$88 \pm 13$	$<0,0001$
Altura (cm)	$166 \pm 9$	$161 \pm 10$	$<0,0001$
Perímetro de cintura (cm)	$96 \pm 9$	$106 \pm 8$	$<0,0001$
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	$27 \pm 2$	$34 \pm 3$	$<0,0001$
Tratamiento farmacológico (%):			
ARA II	49	50	1,0
Diuréticos	42	46	0,57
IECAs	28	36	0,23
Bloqueadores beta	22	21	1,0
Calcioantagonistas	18	21	0,72
Estatinas	20	30	0,14

Los datos son presentados como la media  $\pm$  desviación estándar o como porcentaje de sujetos. ARA II, antagonistas de los receptores tipo II de la angiotensina; IECA, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; IMC, índice de masa corporal; Na, sodio.

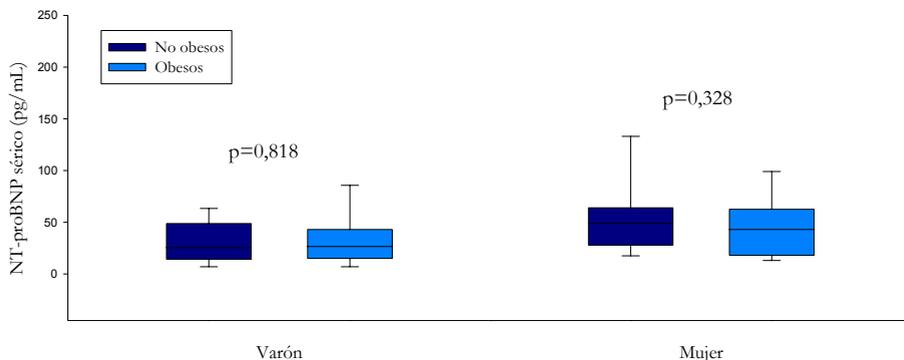
Al comparar los valores de los parámetros ecocardiográficos de función ventricular sistólica y diastólica entre el grupo de obesos y de no obesos, no obtuvimos diferencias estadísticamente significativas (datos no mostrados).

No encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar los niveles de NT-proBNP en suero entre pacientes hipertensos no obesos y obesos (mediana 51 (26-129) pg/mL vs. mediana 56 (25-130) pg/mL,  $p=0,488$ ) (Fig. 5). Además, tampoco obtuvimos diferencias en los niveles de NT-proBNP entre no obesos y obesos al considerar solamente el grupo con hipertrofia ventricular izquierda ( $n=104$ ) (mediana 135 (73-425) pg/mL vs. mediana 151 (64-274) pg/mL,  $p=0,597$ ).



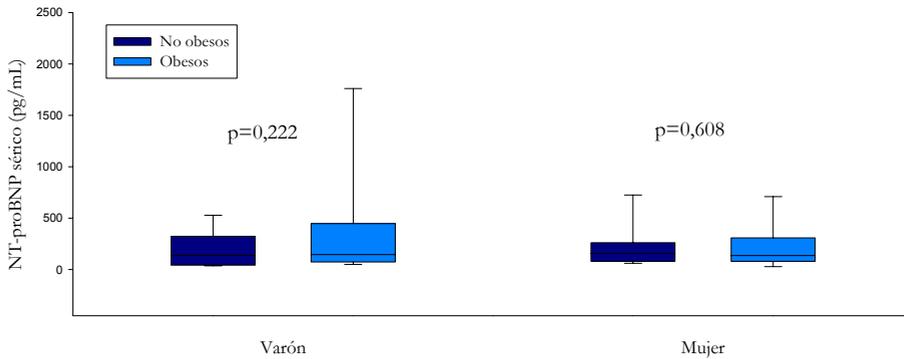
**Figura 5.** Niveles de NT-proBNP en suero entre los pacientes hipertensos no obesos ( $n=143$ ) y los pacientes obesos ( $n=109$ ). Las cajas muestran la mediana (línea horizontal), rango intercuartílico (límites superior e inferior de las cajas), y el percentil 5 y 95 (barras de error).

Cuando comparamos las concentraciones del péptido dividiendo al grupo por género, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre no obesos y obesos en los pacientes no hipertróficos (Fig. 6).



**Figura 6.** Niveles de NT-proBNP en suero en pacientes con hipertensión esencial y sin hipertrofia ventricular izquierda ( $n=148$ ).

Tampoco observamos diferencias al comparar los niveles de NT-proBNP en suero en el grupo de pacientes con HVI (Fig. 7).



**Figura 7.** Niveles de NT-proBNP en suero en pacientes con hipertensión esencial y con hipertrofia ventricular izquierda (n=104).

Por otro lado, no obtuvimos correlaciones significativas entre los niveles séricos de NT-proBNP e índices antropomórficos, como el IMC y perímetro de cintura, en el grupo de no obesos ( $r=0,03$  y  $r=0,05$ , respectivamente) y tampoco en el grupo de obesos ( $r=0,02$  y  $r=0,02$ , respectivamente).

Además, al considerar el papel de la obesidad para analizar la utilidad de NT-proBNP en suero en la detección de hipertrofia ventricular izquierda, se realizó una curva ROC en el grupo de pacientes no obesos y otra en el grupo de obesos, obteniéndose resultados similares en ambos casos ( $ABC=0,88 \pm 0,03$  y  $ABC=0,89 \pm 0,03$ ) (Tabla 5).

**Tabla 5.** Curva ROC para la detección de hipertrofia ventricular izquierda de las concentraciones séricas de NT-proBNP en sujetos con hipertensión esencial.

Variable	P. corte	ABC (ES)	P valor	95% IC	ss	sp	VPP	VPN
Obesos								
NT-proBNP (pg/mL)	48,15	0,89 (0,03)	0,0001	0,83-0,95	90	30	70	90
No obesos								
NT-proBNP (pg/mL)	39,07	0,88 (0,03)	0,0001	0,83-0,94	90	41	58	89

ABC, área bajo la curva; IC, intervalo de confianza; ss, sensibilidad; sp, especificidad; P, punto; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo.

Como hemos mostrado previamente en el Apartado 1 de Resultados (Tabla 2), se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar la influencia de diferentes variables sobre los niveles séricos de NT-proBNP normalizados logarítmicamente. Ningún índice antropomórfico fue factor predictor independiente de la concentración sérica de NT-proBNP.

Finalmente, añadimos al Modelo 1 de regresión logística realizado en el Apartado 1 de Resultados (Tabla 3) los diferentes índices antropomórficos medidos. Ninguno de ellos fue predictor independiente de los niveles de NT-proBNP (Tabla 6).

**Tabla 6.** Análisis de regresión logística de los niveles de NT-proBNP sérico por encima de 40 pg/mL en pacientes con hipertensión esencial (n=252).

Variable	OR (IC 95%)	p Valor
Modelo 1		
Edad, por 1 año	1,04 (1,0 – 1,1)	0,017
Género (ref. varón)	0,34 (0,2 – 0,8)	0,001
TAS, por 1 mmHg	1,00 (0,9 – 1,0)	0,99
FGR, por mL/min/1,73 m <sup>2</sup>	0,99 (0,9 – 1,0)	0,37
FC, por 1 lpm	1,01 (0,9 – 1,0)	0,71
E/A, por 1 unidad	1,36 (0,2 – 7,8)	0,73
IMVI ≥125 g/m <sup>2</sup>	11,3 (4,8 – 26,6)	0,0001
Modelo 1 + altura, por 1 m	1,06 (1,0 – 1,1)	0,08
Modelo 1 + peso, por 1 kg	0,99 (0,9 – 1,0)	0,68
Modelo 1 + perímetro de cintura, por 1 cm	0,99 (0,9 – 1,0)	0,47
Modelo 1 + índice de masa corporal, por 1 kg/m <sup>2</sup>	0,93 (0,8 – 1,0)	0,11
Modelo 1 + índice de masa corporal ≥ 30 kg/m <sup>2</sup>	0,71 (0,3 – 1,5)	0,37

E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; FC, frecuencia cardíaca; FGR, filtrado glomerular renal, IC, intervalo de confianza; IMC, índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo.

### 3. NIVELES URINARIOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON SUS CONCENTRACIONES SÉRICAS, CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

En este estudio transversal se analizaron 160 pacientes hipertensos asintomáticos (edad  $61 \pm 14$  años, 53% varones) que tenían cuantificados los niveles séricos y urinarios de NT-proBNP. La Tabla 7 muestra las características basales de estos pacientes.

**Tabla 7.** Características de los pacientes hipertensos (n=160).

	Con HVI (n=60)	Sin HVI (n=100)	p Valor
Edad (años)	70 ± 11	56 ± 12	<0,0001
Género (varones %)	53	53	0,18
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	141 ± 18	134 ± 13	0,008
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	79 ± 10	82 ± 8	0,08
Presión de pulso (mm Hg)	62 ± 15	52 ± 11	<0,0001
Frecuencia cardíaca (lpm)	70 ± 12	70 ± 10	0,85
Filtrado glomerular renal (mL./min/1,73m <sup>2</sup> )	83 ± 23	102 ± 36	0,002
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	30 ± 6	29 ± 4	0,29
Diabetes mellitus (%)	22	13	0,12
Tiempo evolución de la hipertensión (meses)	139 ± 127	98 ± 70	0,042
Parámetros ecocardiográficos:			
Fracción de eyección (%)	59 ± 5	61 ± 5	0,095
E/A	0,77 ± 0,16	0,98 ± 0,24	<0,0001
Vp (cm/s)	39 ± 7	58 ± 11	<0,0001
TD(ms)	231 ± 35	182 ± 19	<0,0001
IVRT (ms)	101 ± 6	88 ± 6	<0,0001
IMVI (g/m <sup>2</sup> )	144 ± 25	95 ± 11	<0,0001
IVTS (mL/m <sup>2</sup> )	25 ± 7	20 ± 4	<0,0001
IVTD (mL/m <sup>2</sup> )	61 ± 14	51 ± 8	<0,0001
GSID (mm)	12,6 ± 0,1	11,1 ± 0,08	<0,0001
GPPD (mm)	12,3 ± 0,1	11,0 ± 0,07	<0,0001
DPAV (mm)	13,17 ± 1,07	13,93 ± 0,97	<0,0001

Los datos son presentados como media ± desviación estándar o como porcentaje de sujetos. DPAV, desplazamiento del plano auriculoventricular; E/A, velocidad máxima tardía del flujo transmitral/velocidad máxima temprana del flujo transmitral; GPPD, grosor de pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole; GSID, grosor del septo interventricular en diástole; HVI, hipertrofia ventricular izquierda; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; IVTR, tiempo de relajación isovolumétrica; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; IVTS, índice de volumen telesistólico; IVTD, índice de volumen telediastólico; TD, tiempo de deceleración; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

Todos ellos recibían tratamiento médico estable, el 64% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), el 50% con diuréticos, el 34% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), el 28% con estatinas, el 25% con calcioantagonistas y el 14% con bloqueadores beta.

Las concentraciones séricas y urinarias de NT-proBNP (con o sin normalizar por creatinina) eran más elevadas en los pacientes con HVI al compararse con el grupo no hipertrófico ( $p < 0,0001$ ) y grupo control ( $p < 0,0001$ ). Sin embargo, los niveles de NT-proBNP en suero y orina (con o sin normalización) fueron similares entre el grupo de pacientes sin HVI y los controles (Tabla 8).

**Tabla 8.** Valores de NT-proBNP

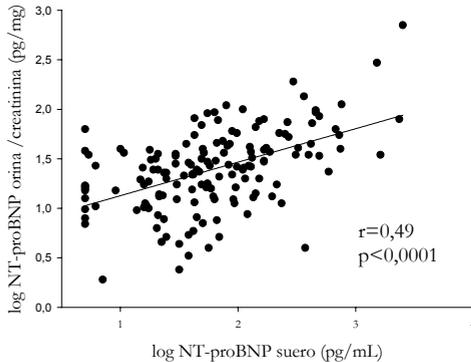
	GRUPO CONTROL (n=32)	PACIENTES		p*	p**	p†
		SIN HVI (n=100)	CON HVI (n=60)			
NT-proBNP en suero (pg/mL)	37 (23-58)	32 (18-60)	190 (97-415)	0,502	<0,0001	<0,0001
NT-proBNP en orina (pg/mL)	12 (11-13)	12 (10-14)	16 (13-18)	0,680	<0,0001	<0,0001
NT-proBNP en orina/ creatinina (pg/mg)	21 (19-23)	22 (11-35)	37 (23-63)	0,679	<0,0001	<0,0001

Los datos son presentados como mediana y rango intercuartílico. \*Grupo control vs. pacientes sin hipertrofia; \*\*grupo control vs. pacientes con hipertrofia; † con hipertrofia vs. sin hipertrofia. HVI, hipertrofia ventricular izquierda; NT-proBNP, N-terminal propéptido natriurético tipo B.

Por otra parte, no encontramos diferencias estadísticamente significativas en los valores urinarios de NT-proBNP al compararlos entre pacientes hipertróficos de acuerdo con la obesidad (no obesos n=34, mediana 15 (12-18) pg/mL vs. obesos n=26, mediana 16 (13-18) pg/mL,  $p=0,830$ ) y en pacientes sin HVI (no obesos n=58, mediana 12 (9-14) pg/mL vs. obesos n=42, mediana 12 (10-15) pg/mL,  $p=0,603$ ). Tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas en los valores urinarios de NT-proBNP normalizados por creatinina al compararlos entre pacientes hipertróficos de acuerdo con la obesidad (no obesos n=34, mediana 45 (15-58) pg/mL vs. obesos n=26, mediana 34 (27-73) pg/mL,  $p=0,900$ ) y en pacientes

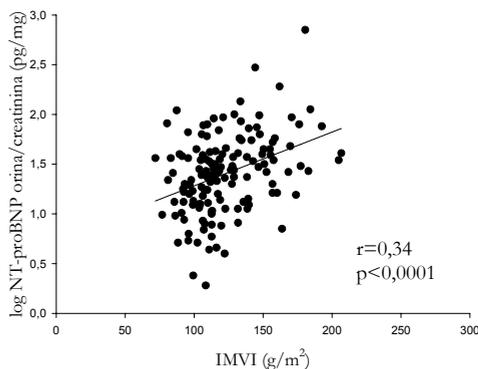
sin HVI (no obesos  $n=58$ , mediana 18 (10-37)  $\text{pg/mL}$  vs. obesos  $n=42$ , mediana 22 (13-29)  $\text{pg/mL}$ ,  $p=0,876$ ).

Los niveles de NT-proBNP en suero estuvieron correlacionados con los niveles del péptido en orina normalizados por creatinina ( $r=0,49$   $p<0,0001$ ) (Fig. 8).



**Figura 8.** Relación entre los niveles séricos y urinarios de NT-proBNP normalizados por creatinina ( $n=160$ ).

Los niveles urinarios de NT-proBNP/creatinina estuvieron correlacionados con el IMVI ( $r=0,34$ ,  $p<0,0001$ ) (Fig. 9) y con diversos parámetros de función ventricular diastólica como velocidad de propagación del flujo mitral ( $r=-0,34$ ,  $p<0,0001$ ), ratio E/A ( $r=-0,29$ ,  $p<0,001$ ), tiempo de deceleración ( $r=0,33$ ,  $p<0,0001$ ) y tiempo de relajación isovolumétrica ( $r=0,32$ ,  $p<0,0001$ ).



**Figura 9.** Relación entre los niveles urinarios de NT-proBNP normalizados por creatinina y el índice de masa del ventrículo izquierdo ( $n=160$ ).

Además, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar si la edad, género, tensión arterial sistólica, tiempo de evolución de la HTA, patrón diastólico E/A, IMVI, tratamiento y niveles séricos de NT-proBNP, influían sobre los niveles urinarios de NT-proBNP normalizados por creatinina (Tabla 9). En el Modelo 1, se identificó la edad ( $p=0,034$ ) y el IMVI ( $p=0,026$ ) con una  $r^2$  de 0,54 ( $p<0,0001$ ), y en el Modelo 2 (Modelo 1 + NT-proBNP sérico) se identificó como único factor predictivo la concentración sérica de NT-proBNP ( $p=0,001$ ) con una  $r^2$  de 0,60 ( $p<0,0001$ ).

**Tabla 9** Análisis de regresión lineal múltiple para la detección de factores independientes de los niveles de NT-proBNP en orina transformados logarítmicamente, en pacientes hipertensos ( $n=160$ ).

Variable	Modelo 1			Modelo 2		
	B	ES	p Valor	B	ES	p Valor
Edad	0,009	0,004	<b>0,034</b>	0,003	0,004	0,545
Género	-0,079	0,071	0,268	-0,048	0,068	0,480
TAS	-0,001	0,003	0,659	-0,002	0,002	0,498
T de evolución de la HTA	0,000	0,000	0,392	0,000	0,000	0,385
E/A	0,046	0,202	0,819	0,017	0,191	0,930
IMVI	0,004	0,002	<b>0,026</b>	0,001	0,002	0,499
ARA II	-0,117	0,212	0,584	-0,195	0,201	0,335
IECAs	-0,147	0,211	0,489	-0,222	0,201	0,272
Diuréticos	0,053	0,076	0,485	-0,071	0,072	0,324
Bloqueadores beta	-0,067	0,094	0,472	-0,084	0,088	0,343
log NT-proBNP en suero	-	-	-	0,282	0,081	<b>0,001</b>

Modelo 1  $r^2=0,54$ ,  $p<0,0001$ . Modelo 2  $r^2=0,60$ ,  $p<0,0001$ . ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; E/A, velocidad máxima tardía del flujo transmitral/velocidad máxima temprana del flujo transmitral; HTA, hipertensión arterial; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; log NT-proBNP, N-terminal propeptido natriurético cerebral transformado logarítmicamente; T, tiempo; TAS, tensión arterial sistólica.

Al analizar la utilidad del NT-proBNP urinario/creatinina para detectar HVI mediante una curva ROC se obtuvo un ABC=0,71 ( $p<0,0001$ ), con un punto de corte óptimo de 37 pg/mg (sensibilidad 53%, especificidad 82%, VPP 63% y VPN 74%). Los niveles de NT-proBNP en suero obtuvieron un ABC=0,91 ( $p<0,0001$ ), con un punto de corte de 72 pg/mL (sensibilidad 85%, especificidad 85%, VPP 77% y VPN 90%).

Por otro lado, al realizar una regresión logística para identificar los predictores de HVI, mostramos que la edad con una *odds ratio*=1,118 (IC 95% 1,068–1,170) ( $p<0,0001$ ), los niveles urinarios de NT-proBNP/creatinina (por encima de 37 pg/mg) con una *odds ratio*=4,074 (IC 95% 1,523-10,89) ( $p=0,009$ ) y los niveles séricos de NT-proBNP (por encima de 72 pg/mL) con una *odds ratio*=18,21 (IC 95% 6–55) ( $p<0,0001$ ) fueron predictores independientes de HVI. Las demás variables (TAS, género, obesidad y tiempo de evolución de la HTA) no alcanzaron significación estadística (Tabla 10).

**Tabla 10.** Análisis de regresión logística de diferentes predictores de hipertrofia ventricular izquierda (n=160).

Variable	OR (IC 95%)	p Valor
Modelo 1		
Edad, por 1 año	1,118 (1,068-1,170)	<0,0001
Género (ref. varón)	1,714 (0,693-4,240)	0,244
TAS, por 1 mm Hg	1,022 (0,991-1,054)	0,163
Obesidad (ref. obeso)	0,640 (0,260-1,574)	0,331
T de evolución de la HTA, 1 mes	1,002 (0,997-1,007)	0,425
Modelo 1 + NT-proBNP/creatinina > 37 pg/mL	4,074 (1,523-10,89)	0,009
Modelo 1 + NT-proBNP sérico > 72 pg/mL	18,21 (6-55)	<0,0001

El punto de corte del NT-proBNP en orina se seleccionó de la curva ROC para la detección de hipertrofia ventricular izquierda. HTA, hipertensión arterial; IC, intervalo de confianza; NT-proBNP, N-terminal propéptido natriurético cerebral; T, tiempo; TAS, tensión arterial sistólica.

#### 4. VARIABILIDAD DE LOS NIVELES DE NT-proBNP EN SUERO EN PACIENTES ESTABLES CON HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL, EN UN SEGUIMIENTO A DOS AÑOS

El grupo inicial de pacientes con el que comenzamos el subestudio de NT-proBNP sérico se componía de 252 pacientes diagnosticados de hipertensión arterial esencial (edad media de  $60 \pm 13$  años). De estos 252 pacientes, 32 no se incluyeron en este subestudio por no cumplir los criterios de inclusión y estabilidad: 21 no quisieron seguir en el estudio, 9 no se pudieron localizar y 2 habían tenido un evento cardíaco.

En total se incluyeron 220 pacientes estables diagnosticados de hipertensión arterial esencial (120 varones, con edad media de  $59 \pm 13$  años). Recibían tratamiento médico estable, el 50% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), el 45% con diuréticos, el 32% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), el 21% con bloqueadores beta, el 19% con calcioantagonistas y el 26% con estatinas. No hubo cambios en la medicación a lo largo del seguimiento. Ninguno de los pacientes estudiados presentó eventos cardiovasculares (ictus cerebral, infarto de miocardio o muerte cardiovascular). Todos los pacientes fueron seguidos hasta el final del estudio, a los 24 meses, con recogida de datos en 3 fases: basal, a los 12 meses (fase I) y a los 24 meses (fase II). Las características clínicas, los valores de NT-proBNP en suero y los parámetros de función ventricular en las 3 fases de acuerdo con la presencia de hipertrofia ventricular izquierda se muestran en la Tablas 11 (grupo con hipertrofia, n=122) y la Tabla 12 (grupo sin hipertrofia, n=98).

**Tabla 11.** Características clínicas de los pacientes con hipertensión esencial e hipertrofia ventricular izquierda (n=122) a lo largo de todo el estudio (basal, fase I=12 meses, fase II=24 meses).

Variable	Basal	Fase I	Fase II
Edad (años)	65 ± 13	66 ± 13	67 ± 12
TAS (mm Hg)	151 ± 23	149 ± 23	144 ± 23‡
TAD (mm Hg)	86 ± 11	85 ± 12	82 ± 11†
PP (mm Hg)	65 ± 20	64 ± 20	62 ± 20†
Frecuencia cardiaca (lpm)	70 ± 13	70 ± 11	69 ± 12
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31 ± 5	31 ± 5	32 ± 5
FGR (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	91 ± 22	89 ± 26	89 ± 28
Colesterol total (mg/dL)	212 ± 36	204 ± 34*	200 ± 31†
Na (mEq/L)	140 ± 5	141 ± 3	141 ± 3
Hemoglobina (mg/dL)	14 ± 1	14 ± 1	14 ± 1
Diabetes mellitus (%)	18	21	22
FE (%)	58 ± 5	58 ± 5	59 ± 5
E/A	0,84 ± 0,25	0,84 ± 0,21	0,82 ± 0,19
IMVI (g/m <sup>2,7</sup> )	63 ± 15	64 ± 14	64 ± 15
NT-proBNP en suero (pg/mL)	102 (45-236)	92 (62-188)	114 (61-265)

Los datos son presentados como media ± desviación estándar o como porcentaje de sujetos, excepto los niveles de NT-proBNP séricos que son expresados como mediana y rango intercuartílico. E/A, velocidad máxima tardía del flujo transmitral/velocidad máxima temprana del flujo transmitral; FE, fracción de eyección; FGR, filtrado glomerular renal; IMC; índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; PP, presión de pulso; TAD, tensión arterial diastólica; TAS, tensión arterial sistólica. Diferencias significativas con respecto a la fase basal: \*p<0,05; †p<0,01; ‡p<0,001

**Tabla 12.** Características clínicas de los pacientes con hipertensión esencial sin hipertrofia ventricular izquierda (n=98) a lo largo de todo el estudio (basal, fase I=12 meses, fase II=24 meses).

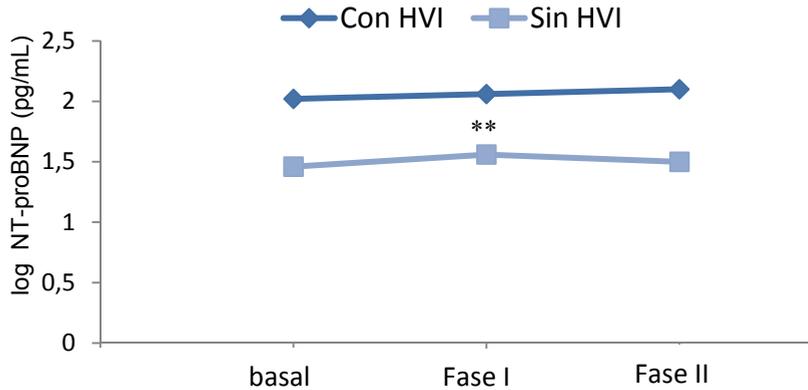
Variable	Basal	Fase I	Fase II
Edad (años)	53 ± 11	54 ± 10	55 ± 12
TAS (mm Hg)	146 ± 17	135 ± 16‡	136 ± 14‡
TAD (mm Hg)	88 ± 11	83 ± 10‡	83 ± 9‡
PP (mm Hg)	58 ± 14	52 ± 12‡	53 ± 12‡
Frecuencia cardíaca (lpm)	70 ± 12	71 ± 11	70 ± 10
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	28 ± 3	28 ± 3	28 ± 3
FGR (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	93 ± 25	94 ± 21	93 ± 21
Colesterol total (mg/dL)	214 ± 40	206 ± 33*	206 ± 33*
Na (mEq/L)	14 ± 2	140 ± 5	139 ± 7
Hemoglobina (mg/dL)	14 ± 1	15 ± 1	15 ± 1
Diabetes mellitus (%)	17	20	21
FE (%)	59 ± 5	59 ± 5	61 ± 5*
E/A	1,02 ± 0,22	1,05 ± 0,27	1,01 ± 0,26
IMVI (g/m <sup>2,7</sup> )	39 ± 6	39 ± 6	39 ± 9
NT-proBNP en suero (pg/mL)	33 (16-54)	39 (27-60)†	37 (18-61)

Los datos son presentados como media ± desviación estándar o como porcentaje de sujetos, excepto los niveles de NT-proBNP séricos que son expresados como mediana y rango intercuartílico. E/A, velocidad máxima tardía del flujo transmitral/velocidad máxima temprana del flujo transmitral; FE, fracción de eyección; FGR, filtrado glomerular renal; IMC; índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; PP, presión de pulso; TAD, tensión arterial diastólica; TAS, tensión arterial sistólica. Diferencias significativas con respecto a la fase basal: \*p<0,05; †p<0,01; ‡p<0,0001

En ambos grupos se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los valores de presión sanguínea (tensión arterial sistólica, diastólica y presión de pulso) y de colesterol total con respecto a la fase basal. El índice de masa corporal, frecuencia cardíaca, variables bioquímicas, tratamiento médico, índice de masa del ventrículo izquierdo y la función diastólica, no mostraron diferencias significativas. Además, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la fracción de eyección y en la concentración de NT-proBNP en el grupo de pacientes no hipertroficados.

La Figura 10 muestra el valor medio de los niveles de NT-proBNP en suero a lo largo de todo el estudio, de acuerdo con la presencia de hipertrofia ventricular izquierda. En el grupo de pacientes con hipertensión e hipertrofia

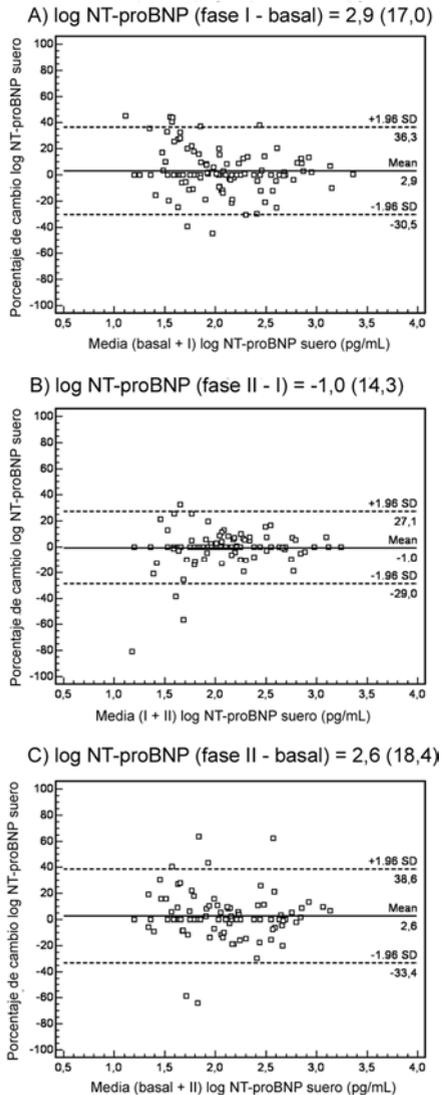
no se encontraron cambios en los niveles del péptido con respecto a la fase basal, sin embargo si los hubo en el grupo sin hipertrofia. Además, las concentraciones de NT-proBNP estuvieron incrementadas en el grupo de hipertroficados con respecto al grupo de pacientes sin hipertrofia.



**Figura 10.** Logaritmo de los niveles séricos de NT-proBNP en pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda (azul oscuro) y sin hipertrofia (azul claro), durante 24 meses. Las medidas representan la media basal, en fase I: 12 meses y en fase II: 24 meses. \*\* $p < 0,01$  respecto a la media basal.

La Figura 11 ilustra los gráficos Bland-Altman para analizar la concordancia de los niveles de NT-proBNP en suero en cada uno de los intervalos analizados en el grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia (A: fase I - basal; B: fase II - fase I; y C: fase II - basal). En el intervalo A, el 93,4% de los pacientes cayeron dentro del rango marcado por 1,96 veces la desviación estándar de la media. La media del porcentaje de cambio de la concordancia de los niveles del péptido fue  $2,9 \pm 17,0$ , con un coeficiente de reproducibilidad (CR) de 33%. En el intervalo B, el 96,7% de los pacientes cayeron dentro del rango de 1,96 la desviación estándar con una media del porcentaje de cambio de  $-1,0 \pm 14,3$  y un CR de 28%. Finalmente, en el intervalo C, el 95,1% de los

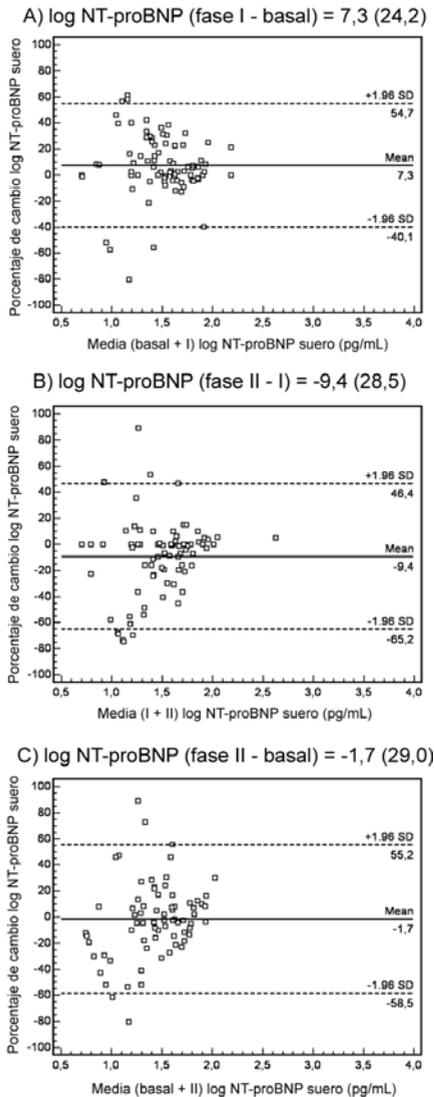
pacientes cayeron dentro de 1,96 la desviación estándar de la media, con un porcentaje de cambio medio de  $2,6 \pm 18,4$  y un CR de 36%.



**Figura 11.** Gráficos Bland-Altman que muestran el grado de concordancia entre el porcentaje de cambio del logaritmo de NT-proBNP en suero frente a la media del logaritmo de NT-proBNP en suero a nivel basal + estadio I (dibujo A), estadio I + estadio II (dibujo B), y basal + estadio II (dibujo C), en pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda. La línea sólida representa la media del porcentaje de cambio. Las líneas punteadas definen los límites de concordancia (media del porcentaje de cambio  $\times 1,96$  DS). DS: desviación estándar; Estadio I: seguimiento 12 meses; Estadio II: seguimiento 24 meses; NT-proBNP: fragmento amino-terminal del péptido natriurético tipo B.

La Figura 12 muestra los cambios de NT-proBNP en pacientes hipertensos sin hipertrofia del ventrículo izquierdo, en los intervalos A, B y C. El porcentaje de pacientes dentro del rango 1,96 veces la desviación estándar

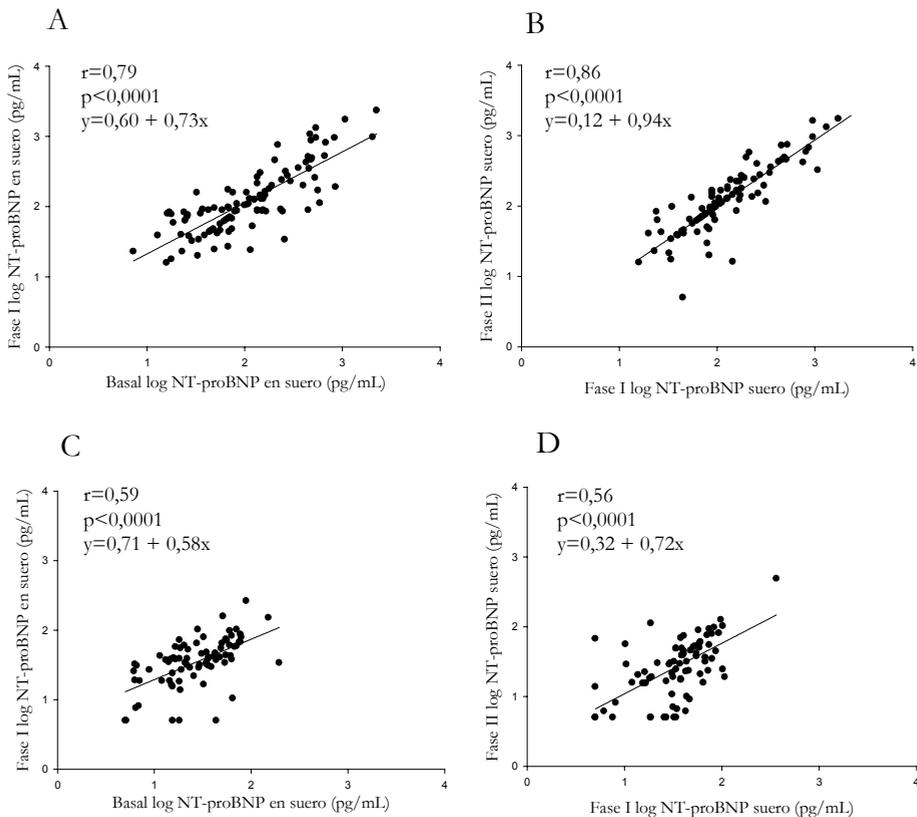
de la media fue 92,9%, 90,1% y 94,9%, respectivamente. Además, los valores medios de porcentaje de cambio fueron, en el intervalo A:  $7,3 \pm 24,2$  con un CR de 47%; intervalo B:  $-9,4 \pm 28,5$  con CR de 56%; e intervalo C:  $-1,7 \pm 29$  con un CR de 57%.



**Figura 12.** Gráficos Bland-Altman que muestran el grado de concordancia entre el porcentaje de cambio del logaritmo de NT-proBNP en suero frente a la media del logaritmo de NT-proBNP en suero a nivel basal + estadio I (dibujo A), estadio I + estadio II (dibujo B), y basal + estadio II (dibujo C), en pacientes hipertensos sin hipertrofia ventricular izquierda. La línea sólida representa la media del porcentaje de cambio. Las líneas punteadas definen los límites de concordancia (media del porcentaje de cambio  $\times 1,96$  DS). DS: desviación estándar; Estadio I: seguimiento 12 meses; Estadio II: seguimiento 24 meses; NT-proBNP: fragmento amino-terminal del péptido natriurético tipo B.

La reproducibilidad fue mejor en las muestras de NT-proBNP sérico de pacientes con hipertrofia ventricular izquierda que en los pacientes sin hipertrofia, al tener unos coeficientes de reproducibilidad más bajos (CR= 1,96 x desviación estándar).

Por último, cuando analizamos la correlación entre las diferentes mediadas de NT-proBNP, se obtuvo un coeficiente de correlación más elevado en el grupo de pacientes con hipertrofia que en el grupo sin hipertrofia (Fig. 13): basal versus fase I ( $r=0,79$ ,  $p<0,0001$  y  $r=0,59$ ,  $p<0,0001$ ) y fase I versus fase II ( $r=0,86$ ,  $p<0,0001$  y  $r=0,56$ ,  $p<0,0001$ ).



**Figura 13.** Correlación entre los niveles de NT-proBNP en suero de pacientes con hipertensión e hipertrofia ventricular izquierda, en las fases basal y fase I (A) y entre la fase I y fase II (B) y en pacientes con hipertensión sin hipertrofia ventricular izquierda, en las fases basal y fase I (C) y entre la fase I y fase II (D). Fase I: 12 meses; Fase II: 24 meses; NT-proBNP: fragmento amino-terminal del péptido natriurético tipo B.

## 5. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

Se estudiaron 251 pacientes hipertensos asintomáticos (edad  $60 \pm 13$  años, 53% varones). Las características clínicas de la población estudiada se muestran en la Tabla 13.

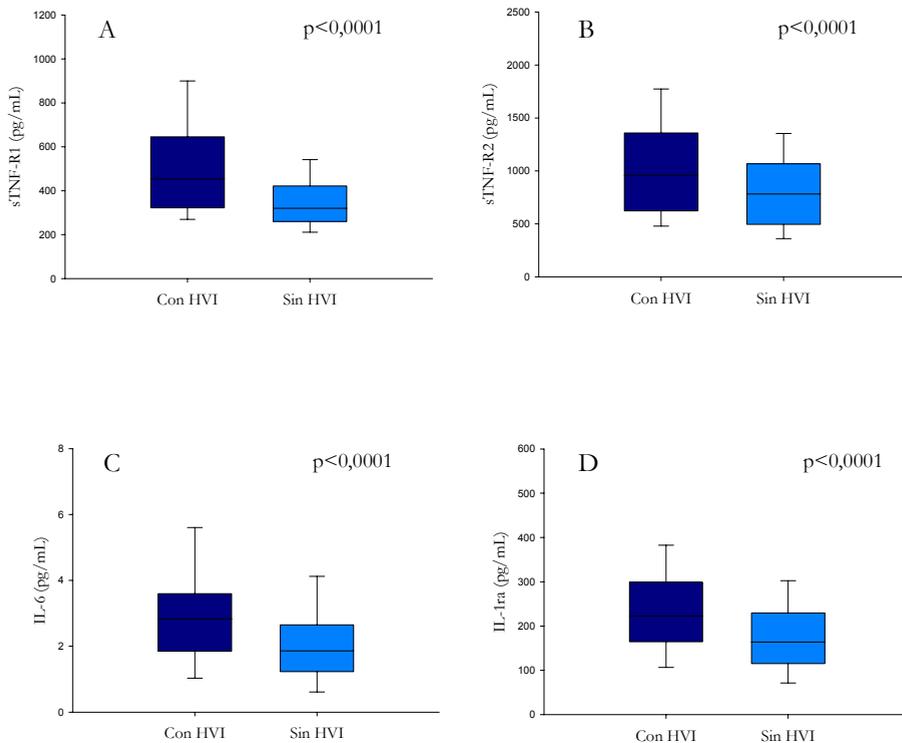
**Tabla 13.** Características de los pacientes hipertensos (n=251).

	Con HVI (n=142)	Sin HVI (n=109)	p Valor
Edad (años)	65 ± 13	53 ± 11	<0,0001
Género (% varones)	49	72	<0,0001
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	152 ± 23	145 ± 16	<0,05
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	87 ± 12	87 ± 11	0,55
Presión de pulso (mm Hg)	65 ± 20	58 ± 14	<0,01
Frecuencia cardiaca (lpm)	71 ± 13	71 ± 13	0,68
Filtrado glomerular renal (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	90 ± 24	94 ± 21	<0,01
Perímetro de cintura (cm)	101 ± 10	99 ± 10	0,09
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	31 ± 5	28 ± 3	0,0001
Diabetes mellitus (%)	18	17	0,87
Tiempo de evolución de la HTA	115 ± 109	61 ± 66	<0,0001
Fumadores (%)	15	20	0,1
Parámetros ecocardiográficos			
FE (%)	59 ± 5	59 ± 5	0,69
E/A	0,82 ± 0,24	0,99 ± 0,23	<0,0001
Vp (cm/s)	44 ± 10	54 ± 10	<0,0001
TD (ms)	211 ± 41	186 ± 29	<0,0001
IVRT (ms)	97 ± 8	92 ± 5	<0,0001
IMVI (g/m <sup>2.7</sup> )	63 ± 15	39 ± 6	<0,0001
IVTS (mL/m <sup>2</sup> )	25 ± 7	23 ± 6	<0,01
IVTD (mL/m <sup>2</sup> )	60 ± 14	56 ± 13	<0,01
GSID (mm)	12,5 ± 0,1	11,3 ± 0,09	<0,0001
GPPD (mm)	12,1 ± 0,1	11,1 ± 0,08	<0,0001
DPAV (mm)	12,09 ± 1,11	12,46 ± 1,00	<0,01

Datos presentados como el valor de la media ± desviación estándar o como porcentaje de sujetos. DPAV, desplazamiento del plano auriculoventricular; E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; FE, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; GPPD, grosor de pared posterior del ventrículo izquierdo en diástole; GSID, grosor del septo interventricular en diástole; HVI, hipertrofia ventricular izquierda; IMC, índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; IVTD, índice de volumen telediastólico; IVTS, índice de volumen telesistólico; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; TD, tiempo de deceleración; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

Todos ellos recibían tratamiento médico estable, el 50% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), el 44% con diuréticos, el 32% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), el 21% con bloqueadores beta, el 20% con calcioantagonistas y el 26% con estatinas.

Las concentraciones plasmáticas de sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra estaban incrementadas en los pacientes hipertróficos comparados con el grupo de pacientes sin hipertrofia (Fig 14), (mediana 453 (322-645) pg/mL vs. mediana 317 (260-421) pg/mL,  $p < 0,0001$ ; mediana 1086 (624-1358) pg/mL vs. mediana 763 (491-1072) pg/mL,  $p < 0,0001$ ; mediana 2,83 (1,85-3,59) pg/mL vs. mediana 1,86 (1,27-2,66) pg/mL,  $p < 0,0001$ ; mediana 223 (165-299) pg/mL vs. mediana 164 (115-230) pg/mL,  $p < 0,0001$ ; respectivamente).



**Figura 14.** Niveles plasmáticos de sTNF-R1 (A), sTNF-R2 (B), IL-6 (C) e IL-1ra (D) en pacientes hipertensos con (n=142) y sin hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI) (n=109).

Además, los niveles de estos marcadores de inflamación estaban incrementados en ambos grupos (hipertróficos y no hipertróficos) con respecto al grupo control (Tabla 14).

**Tabla 14.** Niveles plasmáticos de citocinas y receptores de citocinas.

	Grupo control (n=45)	Todo el grupo (n=251)	Con HVI (n=142)	Sin HVI (n=109)	p Valor*	p Valor**
sTNF-R1 (pg/mL)	240 (162-308)	382 (291-541)	453 (322-645)	317 (260-421)	<0,0001	<0,0001
sTNF-R2 (pg/mL)	516 (256-707)	852 (585-1214)	1086 (624-1358)	763 (491-1072)	<0,0001	<0,0001
IL-6 (pg/mL)	1,18 (0,93-1,58)	2,34 (1,49-3,37)	2,83 (1,85-3,59)	1,86 (1,27-2,66)	<0,0001	<0,0001
IL-1ra (pg/mL)	128 (105-179)	195 (135-263)	223 (165-299)	164 (115-230)	<0,0001	<0,0001

Los datos son expresados como el valor de la mediana y rango intercuartílico

\*Grupo control vs. Hipertróficos. \*\*Grupo control vs. No hipertróficos

HVI, hipertrofia del ventrículo izquierdo; IL-6, interleucina-6, IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1, sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa.

Las concentraciones plasmáticas de citocinas y de los receptores solubles de citocinas estudiados, correlacionaron significativamente con la edad, la presión de pulso, el índice de masa del ventrículo izquierdo, el perímetro de cintura y con la función ventricular diastólica. (Tabla 15).

**Tabla 15.** Correlación simple entre marcadores inmunológicos y diferentes variables en pacientes hipertensos (n=251).

Variable	sTNF-R1	sTNF-R2	IL-6	IL-1ra
Edad (años)	0,55***	0,47***	0,38***	0,20***
Presión de pulso (mm Hg)	0,27***	0,25***	0,22***	0,13*
FGR (mL/min/1,73m <sup>2</sup> )	-0,47***	-0,39***	-0,22***	0,07
Índice de masa del VI (g/m <sup>2,7</sup> )	0,38***	0,26***	0,32***	0,24***
Vp (cm/s)	-0,39***	-0,26***	-0,24***	-0,09
E/A	-0,36***	-0,31***	-0,25***	-0,20***
Tiempo de deceleración (m/s)	0,32***	0,22***	0,18**	0,11
IVRT (ms)	0,25***	0,15*	0,21***	0,16*

FGR, filtrado glomerular renal; IL-6, interleucina-6; IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa; VI, ventrículo izquierdo; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral. \*p<0,05, \*\*p<0,01, \*\*\*p<0,0001

Además, realizamos un análisis de regresión lineal múltiple para averiguar el poder de predicción independiente de los marcadores de inflamación estudiados ajustados por diferentes variables, sobre el índice de masa del ventrículo izquierdo (Tabla 16).

**Tabla 16.** Análisis de regresión lineal múltiple para determinar el poder de predicción de los marcadores inmunológicos estudiados sobre el índice de masa del ventrículo izquierdo (n=251).

	B	ES	95% IC	p Valor
<b>Modelo 1</b>				
Edad	0,438	0,082	0,227-0,599	<b>&lt;0,0001</b>
Género	-4,517	1,93	-8,319--0,716	<b>&lt;0,05</b>
log sTNF-R1	0,016	0,005	0,007-0,025	<b>&lt;0,01</b>
log sTNF-R2	-0,001	0,002	-0,006-0,003	0,59
log IL-6	-0,159	0,424	-0,995-0,677	0,71
log IL-1ra	0,000	0,006	-0,012-0,012	0,97
<b>Modelo 2</b>				
Edad	0,039	0,155	0,267-0,345	0,80
Género	-2,136	2,301	-6,692-2,421	0,36
T evolución HTA	0,029	0,012	0,005-0,052	<b>&lt;0,05</b>
TAS	0,046	0,052	-0,057-0,150	0,38
IMC	1,685	0,34	1,013-2,358	<b>&lt;0,0001</b>
FEVI	0,023	0,197	-0,367-0,412	0,91
Vp	-0,47	0,114	-0,696--0,244	<b>&lt;0,0001</b>
FGR	-0,137	0,068	-0,272--0,003	<b>&lt;0,05</b>
ARA II	-0,285	2,773	-5,776-5,207	0,92
IECAs	-1,023	2,911	-6,786-4,741	0,73
Diureticos	-3,713	2,17	-8,009-0,584	0,90
Bloqueadores beta	2,689	2,56	-2,379-7,757	0,30
log sTNF-R1	0,015	0,006	0,003-0,027	<b>&lt;0,01</b>
log sTNF-R2	-0,001	0,002	-0,006-0,003	0,56
log IL-6	-0,384	0,455	-1,285-0,517	0,40
log IL-1ra	-0,007	0,007	-0,020--0,006	0,27

Modelo 1  $r^2$  0,30 ( $p < 0,0001$ ), modelo 2  $r^2$  0,60 ( $p < 0,0001$ ). ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; FEVI, fracción de eyección del ventrículo izquierdo; FGR, filtrado glomerular renal; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC, índice de masa corporal; log IL-6, interleucina-6 transformada logarítmicamente; log IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1 transformada logarítmicamente; log sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa transformado logarítmicamente; log sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa transformada logarítmicamente; T, tiempo; TAS, tensión arterial sistólica; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

El mejor modelo incluyó sTNF-R1 ( $p < 0,01$ ), el tiempo de evolución de la HTA ( $p < 0,05$ ), el índice de masa corporal ( $p < 0,0001$ ), la velocidad de propagación del flujo mitral ( $p < 0,0001$ ) y el filtrado glomerular renal ( $p < 0,05$ ) como factores independientes, con una  $r^2$  de 0,60 ( $p < 0,0001$ ).

Al analizar la capacidad de sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra para la detección de hipertrofia ventricular izquierda, se utilizaron curvas ROC, en el grupo de pacientes con hipertensión esencial. Para todas las citocinas se obtuvo un área bajo la curva con significación estadística; siendo mayor para las concentraciones de sTNF-R1,  $0,71 \pm 0,03$  (95% IC, 0,65-0,78;  $p < 0,0001$ ). El punto de corte óptimo, la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de cada marcador de inflamación se muestran en la Tabla 17.

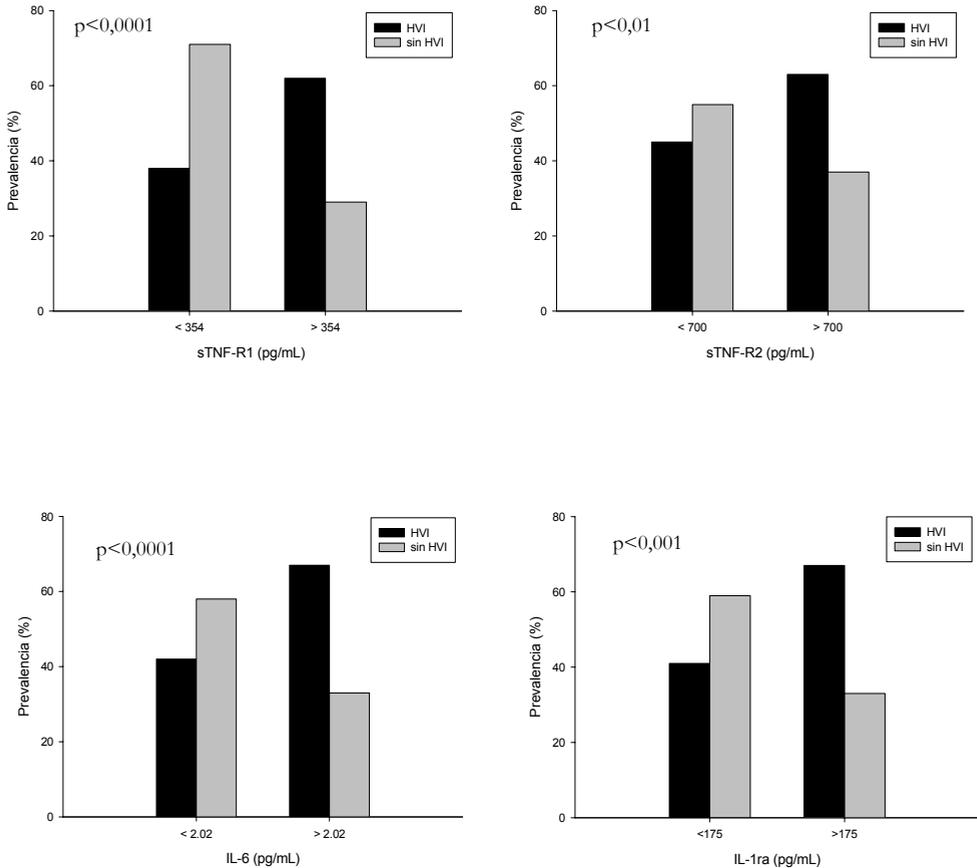
**Tabla 17.** Curva ROC de las concentraciones plasmáticas de sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra para la detección de hipertrofia ventricular izquierda, en un grupo de pacientes con hipertensión esencial (n=251).

Variable	Punto de corte		p Valor	95% IC	SS	SP	VPP	VPN
	ABC							
sTNF-R1 (pg/mL)	354	0,71	<0,0001	0,65-0,78	72	60	71	62
sTNF-R2 (pg/mL)	700	0,63	<0,0001	0,57-0,70	70	48	63	55
IL-6 (pg/mL)	2,02	0,66	<0,0001	0,59-0,73	70	56	67	58
IL-1ra (pg/mL)	175	0,65	<0,0001	0,58-0,72	70	56	67	59

ABC, área bajo la curva; IC, intervalo de confianza; IL-6, interleucina-6; IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa; SS, sensibilidad; SP, especificidad; VPN, valor predictivo negativo; VPP, valor predictivo positivo.

Además, analizamos la prevalencia de hipertrofia en nuestros pacientes de acuerdo con los puntos de corte óptimos seleccionados de las curvas ROC (Fig. 15). Las concentraciones plasmáticas de sTNF-R1 por encima de 354 pg/mL tuvieron un elevado número de pacientes hipertróficos al compararse con las bajas concentraciones (74 vs. 38%;  $p < 0,0001$ ). Los niveles altos de sTNF-R2 (>700 pg/mL) también mostraron una mayor prevalencia de hipertrofia (63 vs. 45%;  $p < 0,01$ ). Los niveles de IL-6 mayores de 2,02 pg/mL y los niveles de IL-1ra por encima de 175 pg/mL también tuvieron un gran

porcentaje de pacientes con hipertrofia ventricular izquierda (67 vs. 42%,  $p < 0,0001$  y 67 vs. 41%,  $p < 0,0001$ ; respectivamente).



**Figura 15.** Prevalencia de hipertrofia en pacientes hipertensos de acuerdo con el punto de corte seleccionado de la curva ROC. P valor: Prevalencia de hipertrofia entre el grupo de hipertroficados con bajas concentraciones de citocinas vs. el grupo con altos niveles.

Finalmente, realizamos un análisis de regresión logística para la detección de hipertrofia ventricular izquierda. Obtuvimos que la edad con una *odds ratio* de 1,06 (95% IC 1,00-1,12;  $p < 0,05$ ), el género con una *odds ratio* de 0,30 (95% IC 0,13-0,72;  $p < 0,01$ ), la obesidad *odds ratio* de 8,28 (95% IC 2,90-23,69;  $p < 0,0001$ ), la velocidad de propagación del flujo mitral *odds ratio* de 0,90

(95% IC 0,85-0,95;  $p < 0,0001$ ) y sTNF-R1 ( $> 354$  pg/mL) con una *odds ratio* de 2,59 (95% IC 1,14-5,87;  $p < 0,05$ ), fueron predictores independientes de hipertrofia. Las demás variables incluidas en el modelo (tiempo de diagnóstico de la hipertensión, tensión arterial sistólica, fracción de eyección, filtrado glomerular renal, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra) no alcanzaron significación estadística.

## 6. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD

Se estudiaron 251 pacientes hipertensos asintomáticos consecutivos ( $60 \pm 13$  años, 53% varones). Las características clínicas de la población de estudio las mostramos en el apartado anterior (Tabla 12).

Al analizar los niveles de estas citocinas y receptores de citocinas de acuerdo con la obesidad (índice de masa corporal  $> 30$  Kg/m<sup>2</sup>) obtuvimos un aumento estadísticamente significativo de los valores de estas moléculas en el grupo de pacientes hipertensos obesos (Tabla 18).

**Tabla 18.** Niveles plasmáticos de citocinas y receptores de citocinas en la población de estudio de acuerdo con la obesidad.

	Obesos (n=142)	No obesos (n=109)	p Valor
sTNF-R1 (pg/mL)	409 (311-582)	356 (279-496)	0,007
sTNF-R2 (pg/mL)	882 (600-1357)	837 (538-1126)	0,049
IL-6 (pg/mL)	2,74 (1,92-3,67)	1,93 (1,29-3,01)	0,0001
IL-1ra (pg/mL)	225 (169-305)	174 (116-247)	0,0001

Los datos son expresados como el valor de la mediana y rango intercuartílico. IL-6, interleucina-6, IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1, sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa.

Las concentraciones plasmáticas de sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra, correlacionaron significativamente con el índice de masa corporal ( $r=0,19$ ,  $p < 0,01$ ;  $r=0,15$ ,  $p < 0,05$ ;  $r=0,27$ ,  $p < 0,0001$  y  $r=0,33$ ,  $p < 0,0001$ ; respectivamente) y con el perímetro de cintura ( $r=0,20$ ,  $p < 0,0001$ ;  $r=0,13$ ,  $p < 0,05$ ;  $r=0,24$ ,  $p < 0,0001$  y  $r=0,24$ ,  $p < 0,0001$ ; respectivamente). Sin embargo, al ajustar el índice de masa corporal y el perímetro de cintura por edad, género,

tensión arterial, diabetes, filtrado glomerular renal, índice de masa del ventrículo izquierdo y tratamiento, en un análisis multivariable, únicamente se mantuvo esta correlación para IL-6 e IL-1ra.

Cuando evaluamos los niveles de los marcadores de inflamación estudiados de acuerdo con la obesidad y considerando únicamente al grupo de pacientes hipertensos con presencia de hipertrofia ventricular izquierda, observamos que sólo IL-1ra mantiene sus valores significativamente elevados en el grupo de sujetos obesos con respecto al grupo de no obesos (Tabla 19).

**Tabla 19.** Niveles plasmáticos de citocinas y receptores de citocinas de acuerdo con la obesidad, en el grupo de pacientes con hipertrofia ventricular.

	Obesos (n=142)	No obesos (n=109)	p Valor
sTNF-R1 (pg/mL)	462 (344-615)	443 (301-667)	0,990
sTNF-R2 (pg/mL)	925 (623-1357)	1006 (605-1375)	0,940
IL-6 (pg/mL)	2,84 (1,93-3,62)	2,66 (1,54-3,53)	0,317
IL-1ra (pg/mL)	229 (177-308)	187 (129-298)	0,048

Los datos son expresados como el valor de la mediana y rango intercuartílico. IL-6, interleucina-6, IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1, sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa.

Como mostramos en la Tabla 20, cuando consideramos únicamente el grupo de pacientes hipertensos sin hipertrofia ventricular, aumentan las diferencias de estas moléculas entre ambos grupos, aunque las diferencias son estadísticamente significativas únicamente para IL-6 y de IL-1ra.

**Tabla 20.** Niveles plasmáticos de citocinas y receptores de citocinas de acuerdo con la obesidad, en el grupo de pacientes sin hipertrofia ventricular.

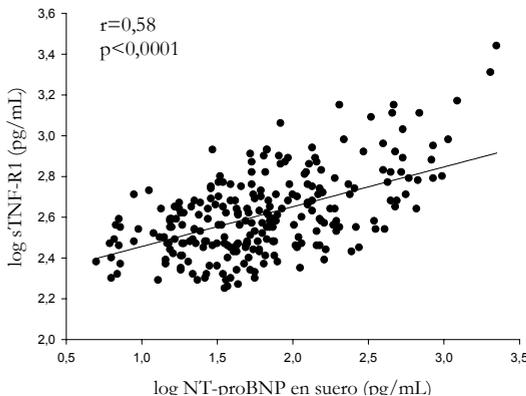
	Obesos (n=142)	No obesos (n=109)	p Valor
sTNF-R1 (pg/mL)	362 (270-445)	309 (256-421)	0,317
sTNF-R2 (pg/mL)	792 (460-1363)	725 (499-1054)	0,617
IL-6 (pg/mL)	2,47 (1,51-4,19)	1,71 (1,15-2,45)	0,006
IL-1ra (pg/mL)	192 (136-341)	160 (103-223)	0,047

Los datos son expresados como el valor de la mediana y rango intercuartílico. IL-6, interleucina-6, IL-1ra, antagonista del receptor de interleucina-1, sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa.

## 7. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON LOS NIVELES DE NT-proBNP

Se estudiaron 251 pacientes hipertensos asintomáticos consecutivos ( $60 \pm 13$  años, 53% varones). Las características basales de la población de estudio las mostramos en el apartado 5 (Tabla 12).

Las concentraciones plasmáticas de los diferentes marcadores de inflamación estudiados correlacionaron significativamente con los niveles en suero de NT-proBNP, siendo esta correlación más elevada con los niveles en plasma de sTNF-R1 ( $r=0,58$ ,  $p<0,0001$ ) (Fig. 16). La correlación de sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra con NT-proBNP fue de  $r=0,40$ ,  $p<0,0001$ ;  $r=0,25$ ,  $p<0,0001$  y  $r=0,22$ ,  $p<0,001$ ; respectivamente.



**Figura 16.** Correlación entre las concentraciones plasmáticas de sTNF-R1 y los niveles en suero de NT-proBNP en pacientes con hipertensión arterial esencial ( $n=251$ ).

## 8. APOPTOSIS, COLÁGENO INTERSTICIAL Y FUNCIÓN DIASTÓLICA EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL

Se estudiaron 253 pacientes consecutivos asintomáticos con hipertensión esencial con una edad media de  $60 \pm 13$  años (139 varones (55%) y 114 mujeres). Los sujetos de estudio fueron previamente diagnosticados con diferentes factores de riesgo cardiovascular, un 18% eran diabéticos y un 43%

obesos. Todos ellos recibían tratamiento médico estable, el 50% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), el 43% con diuréticos, el 32% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), el 21% con bloqueadores beta, el 20% con calcioantagonistas y el 25% con estatinas. El valor medio de tensión arterial sistólica fue de  $149 \pm 21$  mmHg y el de tensión arterial diastólica  $82 \pm 11$  mm Hg. Presentaban un valor medio de fracción de eyección de  $59 \pm 5\%$ , la velocidad de propagación del flujo mitral fue de  $48 \pm 11$  cm/s, el ratio E/A fue  $0,9 \pm 0,2$ , el tiempo de deceleración fue de  $200 \pm 38$  ms, el tiempo de relajación isovolumétrica fue de  $95 \pm 7$  ms y la velocidad máxima de relajación fue de  $44 \pm 11$ .

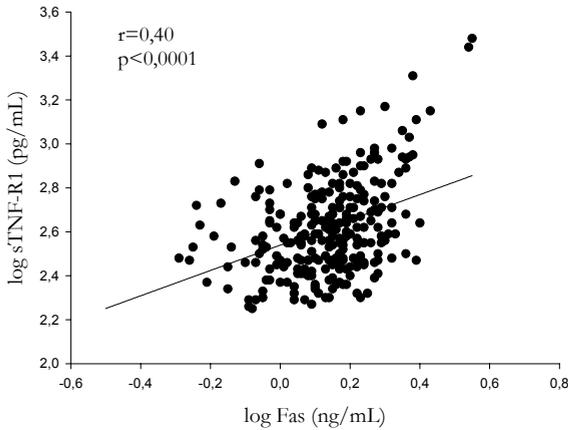
Como mostramos en la Tabla 21, las concentraciones séricas de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I (PINP) y de propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III (PIIINP) fueron mayores en el grupo de pacientes con hipertrofia del ventrículo izquierdo (n=142) al compararlas con el grupo de no hipertróficos (n=111) [41 (31 – 52) ng/mL vs. 35 (28 – 47) ng/mL, p=0,010 y 4,33 (3,71 – 5,29) ng/mL vs. 3,98 (3,49 – 4,58) ng/mL, p=0,005, respectivamente]. Además, los niveles plasmáticos del receptor Fas en su forma soluble (sFas) y los del receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R1) también fueron más altos en el grupo de pacientes hipertróficos [1,47 (1,2 – 1,77) ng/mL vs. 1,37 (1,1 – 1,59) ng/mL, p=0,012 y 466 (331 – 657) pg/mL vs. 317 (260 – 427) pg/mL, p<0,0001, respectivamente].

**Tabla 21.** Concentraciones de los marcadores analizados en pacientes con hipertensión esencial.

	Control (n=44)	Todos (n=253)	Sin HVI (n=111)	Con HVI (n=142)	p Valor*
PIIINP (ng/mL)	3,54 (2,98 – 4,54)	4,18 (3,55 – 5,04)	3,98 (3,49 – 4,58)	4,33 (3,71 – 5,29)	0,005
PINP (ng/mL)	45 (30 – 62)	39 (29 – 50)	35 (28 – 47)	41 (31 – 52)	0,010
sFas (ng/mL)	1,00 (0,84 – 1,27)	1,40 (1,13 – 1,69)	1,37 (1,10 – 1,59)	1,47 (1,20 – 1,77)	0,012
sTNF-R1 (pg/mL)	236 (194 – 302)	385 (291 – 545)	317 (260 – 427)	466 (331 – 657)	0,0001

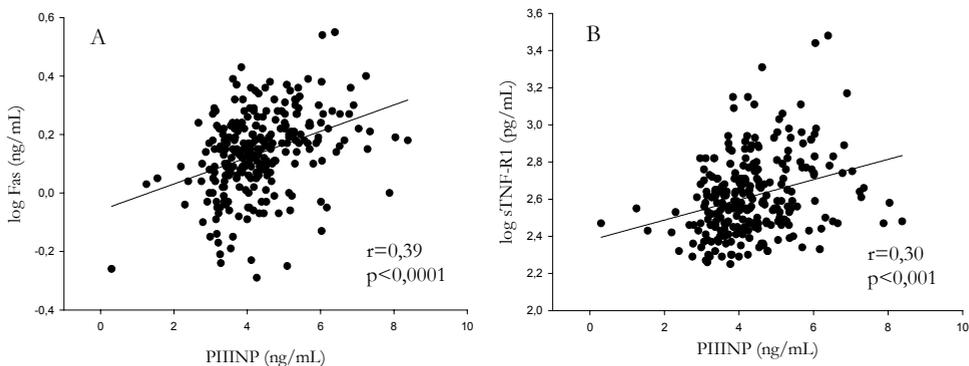
Los datos son expresados como el valor de la mediana y rango intercuartílico. \*Hipertóxicos vs. No hipertróficos. HVI, hipertrofia del ventrículo izquierdo; PINP, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I; PIIINP; propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III; sFas, receptor Fas soluble; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa.

Las concentraciones plasmáticas de sFas y sTNF-R1 correlacionaron con la edad ( $r=0,226$ ,  $p<0,0001$ ;  $r=0,540$ ,  $p<0,0001$ ); con la tensión arterial sistólica ( $r=0,219$ ,  $p<0,0001$ ;  $r=0,183$ ,  $p=0,003$ ), con la presión de pulso ( $r=0,150$ ,  $p=0,02$ ;  $r=0,268$ ,  $p<0,0001$ ) y con el índice de masa corporal ( $r=0,136$ ,  $p=0,03$ ;  $r=0,193$ ,  $p<0,002$ ). Además, los niveles de estos marcadores de apoptosis correlacionaron entre ellos ( $r=0,404$ ,  $p<0,0001$ ) (Fig. 17).



**Figura 17.** Correlación entre las concentraciones plasmáticas de sFas y sTNF-R1 en pacientes con hipertensión esencial ( $n=253$ ).

En la Figura 18 podemos observar la relación que existe entre las concentraciones séricas de PIIINP con los niveles de sFas y sTNF-R1 ( $r=0,39$ ,  $p<0,0001$  y  $r=0,30$ ,  $p<0,001$ , respectivamente). Además, las concentraciones de PINP también correlacionaron con sFas ( $r=0,16$ ,  $p=0,011$ ) y sTNF-R1 ( $r=0,24$ ,  $p<0,0001$ ).



**Figura 18.** Correlación entre los niveles de PIIINP con sFAS (A) y sTNF-R1 (B) en pacientes con hipertensión esencial ( $n=253$ ).

Por otra parte, en la Tabla 22 se muestran los datos del análisis de regresión lineal multivariable para evaluar el efecto de diferentes variables sobre los niveles de PIIINP.

**Tabla 22.** Análisis de regresión lineal univariable y multivariable para la detección de factores independientes de los niveles en suero de PIIINP transformado logarítmicamente en pacientes hipertensos.

	Modelo basal			Modelo 1			Modelo 2		
	B	ES	p	B	ES	p	B	ES	p
Edad	0,003	0,008	0,692	0,002	0,008	0,828	0,002	0,008	0,787
Género	0,359	0,195	0,068	0,262	0,189	0,177	0,352	0,193	0,070
TAS	0,002	0,006	0,725	0,001	0,005	0,790	0,001	0,006	0,854
TAD	0,003	0,010	0,739	0,0001	0,010	0,948	0,007	0,010	0,503
FC	0,006	0,005	0,164	0,008	0,007	0,256	0,008	0,007	0,268
IMC	0,054	0,020	<b>0,008</b>	0,050	0,020	<b>0,013</b>	0,056	0,020	<b>0,006</b>
Diabetes	-0,022	0,216	0,918	-0,028	0,208	0,887	-0,015	0,213	0,943
Tabaquismo	-0,060	0,157	0,704	-0,008	0,153	0,935	-0,063	0,155	0,682
TEHT	0,001	0,001	0,452	0,0001	0,001	0,611	0,001	0,001	0,519
IECAs	0,231	0,241	0,300	0,326	0,233	0,170	0,217	0,239	0,187
Diuréticos	0,097	0,180	0,589	0,106	0,173	0,537	0,098	0,177	0,579
ARA II	-0,399	0,225	0,077	-0,453	0,218	0,097	-0,370	0,222	0,097
Estatinas	0,189	0,200	0,344	0,213	0,193	0,285	0,239	0,198	0,229
CA	0,102	0,217	0,637	-0,065	0,210	0,780	0,129	0,214	0,549
BB	0,050	0,224	0,822	0,029	0,218	0,865	-0,067	0,221	0,763
PINP	0,024	0,005	<b>0,0001</b>	0,001	0,0001	<b>0,0001</b>	0,022	0,005	<b>0,0001</b>
sFas				0,001	0,0001	<b>0,0001</b>			
sTNF-R1							0,001	0,0001	<b>0,001</b>

Modelo basal  $r^2=0,46$  ( $p<0,0001$ ), Modelo 1  $r^2=0,53$  ( $p<0,0001$ ), Modelo 2  $r^2=0,49$  ( $p<0,0001$ ). Los marcadores de apoptosis fueron transformados logarítmicamente. Todas las variables que en el análisis univariable obtuvieron una significación  $<0,05$  se incluyeron en el análisis multivariable, además se ajustaron los modelos por el género y el tratamiento farmacológico. En el modelo 1 se incluyó sFas y en el modelo 2 sTNF-R1. ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; BB, bloqueadores beta; CA, calcioantagonistas; FC, frecuencia cardiaca; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC, índice de masa corporal; PINP, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I; PIIINP; propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III; sFas, receptor Fas en forma soluble; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; TEHT, tiempo de evolución de la hipertensión; TAD, tensión arterial diastólica; TAS, tensión arterial sistólica.

En el modelo basal, el índice de masa corporal ( $p=0,008$ ) y PINP ( $p<0,0001$ ) correlacionaron significativamente con los niveles de PIIINP con una  $r^2$  de 0,46,  $p<0,0001$ . En el modelo 1 de análisis multivariable (sFas transformado logarítmicamente) aparecieron como factores independientes de las concentraciones séricas de PIIINP, el índice de masa corporal ( $p=0,013$ ),

PINP ( $p < 0,0001$ ) y log sFas ( $p < 0,0001$ ), con una  $r^2$  de 0,53,  $p < 0,0001$ . En el modelo 2 (sTNF-R1 transformado logarítmicamente), obtuvimos como variables independientes de los niveles de PIIINP, el índice de masa corporal ( $p = 0,006$ ), PINP ( $p < 0,0001$ ) y log sTNF-R1 ( $p < 0,001$ ), con una  $r^2$  de 0,49,  $p < 0,0001$ .

En la Tabla 23 se muestran los datos del análisis de regresión lineal multivariable para evaluar el efecto de diferentes variables sobre los niveles de PINP.

**Tabla 23.** Análisis de regresión lineal univariable y multivariable para la detección de factores independientes de los niveles en suero de PINP transformado logarítmicamente en pacientes hipertensos.

	Modelo basal			Modelo 1			Modelo 2		
	Beta	ES	p	Beta	ES	p	Beta	ES	p
Edad	0,145	0,122	0,238	0,107	0,123	0,389	0,114	0,128	0,376
Género	-8,147	3,005	<b>0,007</b>	-8,541	2,992	<b>0,005</b>	-8,078	3,009	<b>0,008</b>
TAS	0,057	0,087	0,513	0,053	0,086	0,541	0,051	0,087	0,557
TAD	-0,121	0,155	0,439	-0,147	0,155	0,344	-0,100	0,157	0,528
FC	0,059	0,114	0,607	0,068	0,113	0,549	0,069	0,115	0,548
IMC	-0,649	0,320	<b>0,044</b>	-0,640	0,317	<b>0,046</b>	-0,626	0,321	0,053
Diabetes	-5,735	3,330	0,087	-6,010	3,310	0,071	-5,746	3,333	0,087
Tabaquismo	-3,702	2,423	0,129	-4,151	2,419	0,088	-3,650	2,426	0,134
TEHT	0,007	0,015	0,620	0,009	0,015	0,556	0,008	0,015	0,598
IECAs	6,322	3,728	0,092	5,485	3,731	0,144	5,848	3,771	0,123
Diuréticos	-0,088	2,799	0,975	-0,225	2,781	0,936	-0,113	2,802	0,968
ARA II	-4,183	3,518	0,236	-3,340	3,524	0,345	-4,256	3,521	0,229
Estatinas	-1,664	3,112	0,594	-1,376	3,094	0,657	-1,325	3,139	0,674
CA	2,934	3,370	0,385	3,151	3,349	0,348	2,745	3,380	0,418
BB	-1,678	3,370	0,385	-2,294	3,475	0,510	-1,564	3,488	0,655
PIIINP	5,697	1,152	<b>0,0001</b>	4,907	1,225	<b>0,0001</b>	5,470	1,183	<b>0,0001</b>
sFas				0,006	0,003	0,073			
sTNF-R1							0,004	0,005	0,389

Modelo basal  $r^2 = 0,51$  ( $p < 0,0001$ ), Modelo 1  $r^2 = 0,53$  ( $p < 0,0001$ ), Modelo 2  $r^2 = 0,51$  ( $p < 0,0001$ ). Los marcadores de apoptosis fueron transformados logarítmicamente. Todas las variables que en el análisis univariable obtuvieron una significación  $< 0,05$  se incluyeron en el análisis multivariable, además se ajustaron los modelos por el tratamiento farmacológico. En el modelo 1 se incluyó sFas y en el modelo 2 sTNF-R1. ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; BB, bloqueadores beta; CA, calcioantagonistas; FC, frecuencia cardiaca; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC, índice de masa corporal; PINP, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I; PIIINP, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III; sFas, receptor Fas en forma soluble; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; TEHT, tiempo de evolución de la hipertensión; TAD, tensión arterial diastólica; TAS, tensión arterial sistólica.

En el modelo basal, el género ( $p=0,007$ ), el índice de masa corporal ( $p=0,044$ ) y PIIINP ( $p<0,0001$ ), correlacionaron significativamente con los niveles de PINP con una  $r^2$  de 0,51,  $p<0,0001$ . En el modelo 1 (sFas transformado logarítmicamente) aparecieron como factores independientes de las concentraciones séricas de PINP, el género ( $p=0,005$ ), el índice de masa corporal ( $p=0,046$ ) y PIIINP ( $p<0,0001$ ), con una  $r^2$  de 0,53,  $p<0,0001$ . En el modelo 2 (sTNF-R1 transformado logarítmicamente), obtuvimos como variables independientes de los niveles de PINP, el género ( $p=0,008$ ) y PIIINP ( $p<0,0001$ ), con una  $r^2$  de 0,51,  $p<0,0001$ . Los marcadores apoptóticos estudiados no fueron factores independientes de los niveles de PINP, al ajustar el modelo por edad, género y tratamiento.

Finalmente, analizamos la asociación de parámetros ecocardiográficos de función diastólica y del índice de masa del ventrículo izquierdo con PIIINP, PINP, sFas y sTNF-R1 (Tabla 24). Las concentraciones de estos marcadores correlacionaron significativamente con los diferentes parámetros de función diastólica, como ratio E/A ( $p=0,031$ ,  $p=0,007$ ,  $p=0,0001$ ,  $p=0,0001$ ), tiempo de deceleración ( $p=0,020$ ,  $p=0,005$ ,  $p=0,0001$ ,  $p=0,0001$ ), tiempo de relajación isovolumétrica ( $p=0,023$ ,  $p=0,783$ ,  $p=0,0001$ ,  $p=0,0001$ ), velocidad de propagación del flujo mitral ( $p=0,0001$ ,  $p=0,001$ ,  $p=0,0001$ ,  $p=0,0001$ ) y velocidad máxima de relajación ( $p=0,008$ ,  $p=0,023$ ,  $p=0,0001$ ,  $p=0,0001$ ). Además, todos ellos correlacionaron significativamente con el índice de masa del ventrículo izquierdo ( $p=0,0001$ ,  $p=0,020$ ,  $p=0,002$  y  $p=0,0001$ ).

**Tabla 24.** Relación de los marcadores estudiados con parámetros de función diastólica y con el índice de masa del ventrículo izquierdo.

Variables	PIIINP		PINP		sFas		sTNF-R1	
	r	p	r	p	r	p	r	p
E/A	-0,139	0,031	-0,172	0,007	-0,232	0,0001	-0,347	0,0001
TD (ms)	0,151	0,020	0,179	0,005	0,223	0,001	0,292	0,0001
IVRT (ms)	0,145	0,023	0,018	0,783	0,221	0,0001	0,228	0,0001
Vp (cm/s)	-0,285	0,0001	-0,218	0,001	-0,293	0,0001	-0,360	0,0001
RVm (mm/s)	-0,174	0,008	-0,149	0,023	-0,269	0,0001	-0,277	0,0001
IMVI ( $g/m^{2.7}$ )	0,241	0,0001	0,152	0,020	0,195	0,002	0,374	0,0001

E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; IVRT, tiempo de relajación isovolumétrica; PINP, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo I; PIIINP; propéptido aminoterminal del procolágeno tipo III; sFas, receptor Fas en forma soluble; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; RVm, velocidad máxima de relajación; TD, tiempo de deceleración; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

## 9. NIVELES URINARIOS DE 8-OHdG EN LA HIPERTENSIÓN ARTERIAL ESENCIAL. RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON LA HVI Y CON LA INFLAMACIÓN

Se estudiaron 149 pacientes hipertensos asintomáticos ( $61 \pm 14$  años, 55% varones). Las características clínicas de la población de estudio se muestran en la Tabla 25.

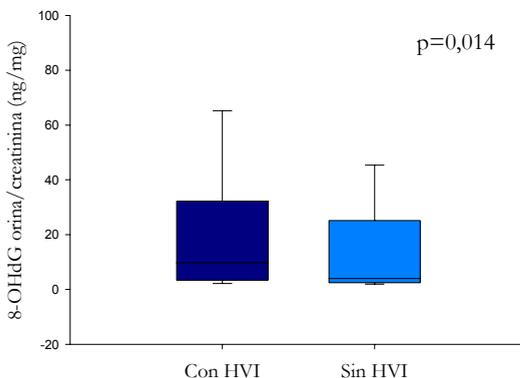
**Tabla 25.** Características de los pacientes hipertensos (n=149).

Variable	Pacientes con HTA
Edad (años)	61 $\pm$ 14
Género (varón %)	55
Tensión arterial sistólica (mm Hg)	136 $\pm$ 15
Tensión arterial diastólica (mm Hg)	80 $\pm$ 9
Presión de pulso (mm Hg)	56 $\pm$ 13
Frecuencia cardiaca (lpm)	70 $\pm$ 11
Filtrado glomerular renal (mL/min/1,73 m <sup>2</sup> )	94 $\pm$ 33
Índice de masa corporal (kg/m <sup>2</sup> )	30 $\pm$ 4
Obesidad (%)	43
Diabetes mellitus (%)	16
Colesterol total (mg/dL)	204 $\pm$ 33
Tabaquismo (%)	15
Tiempo evolución de la HTA (meses)	119 $\pm$ 101
Hipertrofia ventricular (%)	46
TNF-alfa (pg/mL)	9,1 (1,6-20)
sTNF-R1 (pg/mL)	382 (291-516)
sTNF-R2 (pg/mL)	851 (606-1296)
Parámetros ecocardiográficos:	
FE(%)	60 $\pm$ 5
E/A	0,89 $\pm$ 0,23
Vp (cm/s)	51 $\pm$ 14
DT (ms)	201 $\pm$ 35
IVRT (ms)	93 $\pm$ 8
IMVI (g/m <sup>2,7</sup> )	51 $\pm$ 18

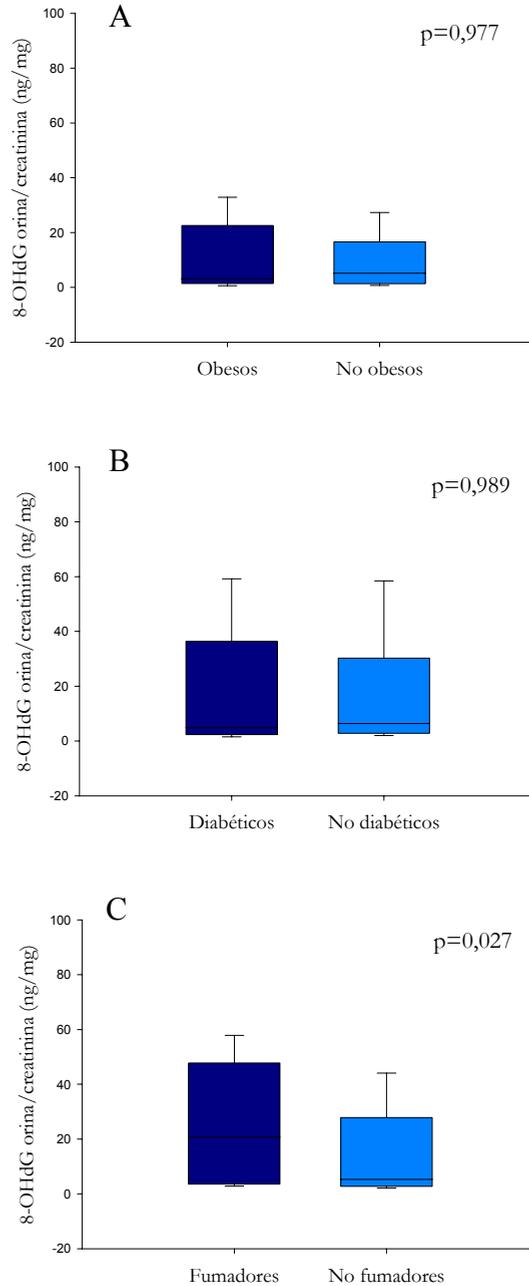
Los datos son presentados como la media  $\pm$  desviación estándar, como mediana (rango intercuartílico) o como porcentaje de sujetos. ARA II, antagonistas de los receptores tipo II de la angiotensina; E/A, cociente entre la velocidad de llenado temprano y tardía en diástole del ventrículo izquierdo; FE, fracción de eyección; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; TNF, factor de necrosis tumoral; sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa; sTNF-R2; receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

Como mostramos en la Tabla 25, de los 149 pacientes con hipertensión arterial esencial estudiados un 55% eran varones, 46% presentaban hipertrofia ventricular izquierda, 43% eran obesos, 16% diabéticos y 15% fumadores. Además, todos ellos recibían tratamiento médico estable, el 59% con antagonistas de los receptores de angiotensina II (ARA II), el 50% con diuréticos, el 37% con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), 31% con estatinas, el 23% con calcioantagonistas y el 15% con bloqueadores beta.

Los niveles en orina de este marcador de estrés oxidativo fueron significativamente mayores en el grupo de pacientes hipertensos hipertróficos comparados con los hipertensos no hipertróficos (9,72 (3,35 – 32) ng/mg vs. 3,93 (2,41 – 25) ng/mg,  $p=0,014$ ) (Fig. 19). Cuando comparamos los niveles de 8-OHdG de acuerdo con el género, encontramos un incremento significativo en las mujeres (12 (3,50 – 39) ng/mg vs. 4,3 (2,40 – 23) ng/mg,  $p=0,002$ ). Además, no se observaron diferencias entre pacientes hipertensos obesos y no obesos (5,71 (2,77 – 31) ng/mg vs. 6,36 (2,83 – 31) ng/mg,  $p=0,977$ ) y tampoco entre pacientes diabéticos y no diabéticos (5,40 (2,42 – 39) ng/mg vs. 6,41 (2,83 – 30) ng/mg,  $p=0,989$ ). Sin embargo, los niveles urinarios de este marcador fueron significativamente mayores en el grupo de hipertensos fumadores al compararlos con el grupo de no fumadores (21 (3,61 – 48) ng/mg vs. 5,32 (2,73 – 28) ng/mg,  $p=0,027$ ) (Fig. 20).

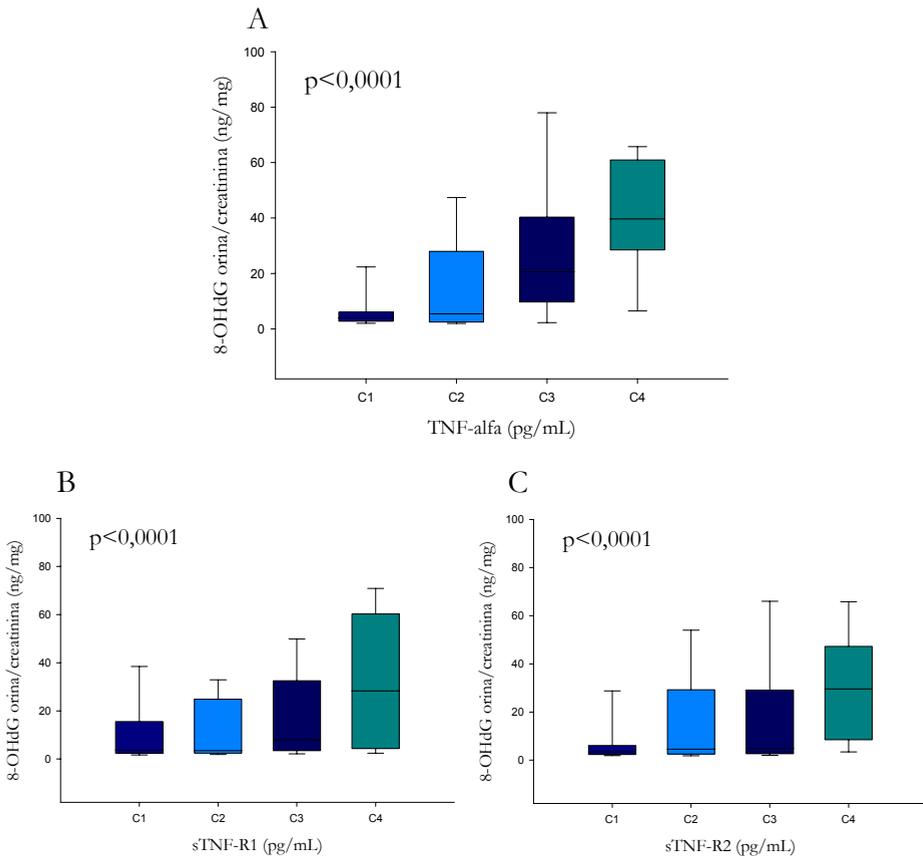


**Figura 19.** Niveles de 8-OHdG/creatinina en orina entre pacientes hipertensos con hipertrofia del ventrículo izquierdo ( $n=69$ ) y pacientes sin hipertrofia ( $n=80$ ). Las cajas muestran la mediana (línea horizontal), rango intercuartílico (límites superior e inferior de las cajas), y el percentil 5 y 95 (barras de error).



**Figura 20.** Niveles de 8-OHdG/creatinina en orina entre pacientes hipertensos obesos ( $n=64$ ) y no obesos ( $n=85$ ) (A), diabéticos ( $n=24$ ) y no diabéticos ( $n=125$ ) (B) y fumadores ( $n=22$ ) y no fumadores ( $n=127$ ) (C). Las cajas muestran la mediana (línea horizontal), rango intercuartílico (límites superior e inferior de las cajas), y el percentil 5 y 95 (barras de error).

Los niveles urinarios de 8-OHdG/creatinina transformados logarítmicamente correlacionaron significativamente con la edad ( $r=0,351$ ,  $p<0,0001$ ) y con el índice de masa del ventrículo izquierdo ( $r=0,214$ ,  $p<0,01$ ), pero este marcador no se asoció con la tensión arterial sistólica, índice de masa corporal, el perímetro de cintura, colesterol total, HDL colesterol ( $r=0,133$ ,  $p=0,107$ ;  $r=0,130$ ,  $p=0,118$ ;  $r=-0,011$ ,  $p=0,900$ ;  $r=-0,100$ ,  $p=0,278$  y  $r=0,162$ ,  $p=0,080$ ; respectivamente). Por otra parte, los niveles en orina de 8-OHdG correlacionaron significativamente con los niveles plasmáticos de TNF-alfa ( $r=0,66$ ,  $p<0,0001$ ), sTNF-R1 ( $r=0,32$ ,  $p<0,0001$ ) y sTNF-R2 ( $r=0,36$ ,  $p<0,0001$ ). Como mostramos en la Figura 21, al dividir los niveles de estos marcadores inflamatorios en cuartiles y comparar las concentraciones de 8-OHdG, obtuvimos diferencias estadísticamente significativas ( $p<0,0001$ ).



**Figura 21.** Comparación de los niveles urinarios de 8-OHdG/creatinina entre los cuartiles de TNF-alfa (A), sTNF-R1 (B) y sTNF-R2 (C), en pacientes con hipertensión arterial esencial (n=149).

Además, se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar qué factores influían de manera independiente sobre los niveles en orina de 8-OHdG/creatinina transformado logarítmicamente (Tabla 26). En el modelo se incluyeron diferentes variables: edad, género, tiempo de evolución de la hipertensión, hipertrofia ventricular izquierda, factores de riesgo cardiovascular (tensión arterial sistólica, diabetes mellitus, índice de masa corporal, colesterol total y tabaquismo), filtrado glomerular renal, velocidad de propagación del flujo mitral, tratamiento farmacológico y marcadores de inflamación (TNF-alfa, sTNF-R1 y sTNF-R2). Se identificó el TNF-alfa ( $p < 0,0001$ ) como factor predictivo independiente de los niveles de 8-OHdG/creatinina transformados logarítmicamente ( $p < 0,0001$ ), junto con el tabaquismo ( $p = 0,035$ ) y el género ( $p = 0,027$ ), con una  $r^2$  de 0,57,  $p < 0,0001$ .

**Table 26.** Análisis de regresión lineal múltiple para determinar el poder de predicción de diferentes variables sobre los niveles de 8-OHdG/creatinina en orina transformados logarítmicamente en pacientes con HTA esencial (n=149).

	B	ES	95% IC	p Valor
Edad	0,007	0,005	-0,003-0,017	0,149
Género	-0,243	0,107	-0,456--0,029	<b>0,027</b>
TAS	-0,005	0,003	-0,011-0,002	0,151
T de evolución de la HTA	0,001	0,000	0,000-0,001	0,249
FGR	0,105	0,194	-0,280-0,490	0,543
Colesterol total	-0,002	0,001	-0,005-0,001	0,121
IMC	-0,004	0,012	-0,028-0,020	0,737
Diabetes mellitus	-0,059	0,125	-0,308-0,190	0,639
Tabaquismo	0,221	0,103	0,016-0,425	<b>0,035</b>
HVI	-0,083	0,120	-0,322-0,156	0,492
Vp	0,002	0,004	-0,006-0,010	0,693
log TNF-alfa	0,488	0,084	0,320-0,657	<b>&lt;0,0001</b>
log sTNF-R1	-0,093	0,349	-0,787-0,601	0,790
log sTNF-R2	0,217	0,249	-0,280-0,714	0,386
ARA II	0,142	0,331	-0,517-0,801	0,670
Diuréticos	0,126	0,096	-0,066-0,318	0,195
IECAs	0,152	0,338	-0,522-0,825	0,655
Calcioantagonistas	-0,082	0,110	-0,301-0,137	0,457
Estatinas	-0,065	0,100	-0,263-0,133	0,514

$r^2=0,57$  ( $p < 0,0001$ ). ARA II, antagonista del receptor de la angiotensina II; FGR, filtrado glomerular renal; HTA, hipertensión arterial esencial; HVI, hipertrofia ventricular izquierda; IECAs, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina; IMC, índice de masa corporal; IMVI, índice de masa del ventrículo izquierdo; log sTNF-R1, receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa transformado logarítmicamente; log sTNF-R2, receptor soluble tipo 2 del factor de necrosis tumoral alfa transformada logarítmicamente; TNF, factor de necrosis tumoral; T, tiempo; TAS, tensión arterial sistólica; Vp, velocidad de propagación del flujo mitral.

## V. DISCUSIÓN

## 1. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

En pacientes con hipertensión, la presencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI) está asociada con un incremento en la mortalidad cardiovascular (Levy *et al.*, 1990, Koren *et al.*, 1991, Devereux *et al.*, 1993, Schillaci *et al.*, 2000). Por lo tanto, su detección temprana es muy importante y las actuales guías de hipertensión recomiendan su búsqueda en la valoración inicial de todo paciente hipertenso (Mancia *et al.*, 2007). El electrocardiograma es una técnica diagnóstica clásica y específica para el diagnóstico de HVI y es el método más utilizado en la práctica clínica para su detección, por su disponibilidad, facilidad y bajo coste. Sin embargo, existen algunas limitaciones que deben tenerse en cuenta a la hora de utilizarlo. Es muy específico para la detección de aumento de la masa ventricular izquierda sin embargo su sensibilidad es baja, ya que no todas las hipertrofias pueden ser detectadas (Alfakih *et al.*, 2006). La ecocardiografía es más sensible que el electrocardiograma para diagnosticar HVI (Reichek *et al.*, 1981). La aparición del ecocardiograma como método de evaluación no invasiva aumentó las cifras de prevalencia, dada la capacidad de esta técnica de detectar pequeñas variaciones en la masa ventricular (Desimone *et al.*, 1999). Sin embargo, su disponibilidad es escasa y no se permite realizarlo en todos los pacientes con hipertensión esencial (Cuspidi *et al.*, 2006). Todo ello ha llevado a la búsqueda de marcadores bioquímicos que ayuden a identificar a esta población de alto riesgo cardiovascular.

Es bien conocido que tanto el péptido natriurético tipo B (BNP), como su fragmento aminoterminal (NT-proBNP) son liberados principalmente desde el miocardio ventricular en respuesta a un incremento del estrés de pared ventricular (de Bold *et al.*, 1996). Se han realizado numerosos estudios sobre el potencial diagnóstico y pronóstico de este péptido en suero tanto en población general como en pacientes con insuficiencia cardiaca (Fisher *et al.*, 2003, Gardner *et al.*, 2003, Bay *et al.*, 2003, Lainchbury *et al.*, 2003, Groenning *et al.*, 2004, Hartmann *et al.*, 2004, Bayés-Genís *et al.*, 2004, Tschöpe *et al.*, 2005a, Tschöpe *et al.*, 2005b, Ng *et al.*, 2005, Goetze *et al.*, 2006, Januzzi *et al.*, 2006,

---

Anguita *et al.*, 2006, Gardner *et al.*, 2007, Pascual-Figal *et al.*, 2008, Rutten *et al.*, 2010). Sin embargo, los trabajos sobre la detección de sus niveles y su papel en el diagnóstico y pronóstico de pacientes con hipertensión esencial son limitados (Hildebrandt *et al.*, 2004, Olsen *et al.*, 2004, Olsen *et al.*, 2005, Pedersen *et al.*, 2005, Belluardo *et al.*, 2006, Furumoto *et al.*, 2006, Mouly-Bertin *et al.*, 2008, García *et al.*, 2009).

Pruebas consistentes muestran que tanto los niveles en plasma de BNP como los de NT-proBNP, son altamente sensibles a la presencia de disfunción ventricular e hipertrofia, incluso en individuos asintomáticos (McDonagh *et al.*, 1998, Goetze *et al.*, 2006). Además, diferentes trabajos han mostrado que los péptidos natriuréticos están asociados positivamente con la masa del ventrículo izquierdo (Kohno *et al.*, 1992, Yamamoto *et al.*, 1996, Vasani *et al.*, 2002, Hildebrandt *et al.*, 2004, Toda *et al.*, 2010). Sin embargo, hay pocos estudios en los que se evalúe de manera directa el poder predictivo de hipertrofia de NT-proBNP sérico en la HTA esencial (Mueller *et al.*, 2005, Mouly-Bertin *et al.*, 2008, Morillas *et al.*, 2008).

En este estudio hemos observado que en un grupo de pacientes con HTA esencial e HVI, los niveles en suero de NT-proBNP son más altos que en los pacientes hipertensos sin hipertrofia, los cuales muestran valores similares a los del grupo control. Además NT-proBNP muestra una elevada correlación con el índice de masa del ventrículo izquierdo y es capaz de discriminar entre pacientes hipertensos hipertróficos y no hipertróficos (ABC=0,89). Este test presenta una buena capacidad de exclusión de hipertrofia, ya que hemos obtenido un elevado valor predictivo negativo (90%). Tanto la correlación entre NT-proBNP y el índice de masa del ventrículo izquierdo, el valor del área bajo la curva, el punto de corte óptimo elegido y el elevado valor predictivo negativo, coinciden con los datos publicados en otro estudio similar (Morillas *et al.*, 2008), aunque estos autores muestran una mayor sensibilidad y especificidad de los niveles del péptido. Esto puede deberse al hecho de que aunque ambos estudios presentan un diseño similar, hay algunas diferencias entre ellos como la determinación de la HVI. En el caso del trabajo realizado por Morillas y col., la hipertrofia se identificó mediante resonancia magnética y en nuestro caso por ecocardiografía, técnica que presenta una mayor variabilidad. Sin embargo, en

---

nuestro estudio, un único cardiólogo especializado, realizó el análisis ecocardiográfico de la masa del ventrículo izquierdo para minimizar dicha variabilidad (variabilidad intraobservador  $8,4 \pm 6\%$ ). Además, el tamaño muestral fue mucho mayor en nuestro estudio.

Por otra parte, es común la presencia de cierto grado de disfunción diastólica en la HTA (Inouye *et al.*, 1984, Verdecchia *et al.*, 1990). Las concentraciones de BNP y de NT-proBNP se incrementan con los estadios progresivos de disfunción diastólica y correlacionan con diferentes parámetros ecocardiográficos de función diastólica (Cheung 1997, Furumoto *et al.*, 2006). En este sentido, en nuestro estudio hemos observado que los niveles séricos de NT-proBNP muestran una correlación significativa con diferentes parámetros ecocardiográficos de función diastólica.

Además, únicamente el género, el índice de masa del ventrículo izquierdo, los bloqueadores beta y la función diastólica (Vp) fueron predictores independientes de los niveles del péptido en el grupo de pacientes con HVI, y la edad mostró una fuerte tendencia. Trabajos previos han mostrado que la edad y el género tienen influencia sobre los niveles de péptidos natriuréticos (Redfield *et al.*, 2002). Además, se ha observado que existe una relación directa entre el incremento del índice de masa del ventrículo izquierdo y niveles altos de NT-proBNP en pacientes hipertensos (Hildebrandt *et al.*, 2004). Sin embargo, el efecto de los bloqueadores beta sobre los péptidos natriuréticos es controvertido. Estudios previos han mostrado una disminución en los niveles de NT-proBNP en pacientes con insuficiencia cardíaca, que tomaban carvedilol durante largos periodos de tiempo (Troughton *et al.*, 2000), pero unos años después se publicó que atenolol incrementaba la concentración de NT-proBNP en hipertensos con HVI (Olsen *et al.*, 2005), como observamos en nuestros resultados. Finalmente, cuando se realizó un análisis de regresión logística para determinar que variables influían sobre las concentraciones de NT-proBNP por encima de 40 pg/mL, sólo la edad, género e índice de masa del ventrículo izquierdo fueron factores predictores independientes de los niveles del péptido en suero.

Una limitación común de este tipo de análisis es que los pacientes con hipertensión esencial reciben terapia convencional (nuestro compromiso ético nos obliga a ello) y sabemos que algunos fármacos como los diuréticos,

antagonistas de los receptores tipo II de la angiotensina, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina o los bloqueadores beta, pueden variar los niveles de NT-proBNP (Troughton *et al.*, 2000, Tsutamoto *et al.*, 2001, Olsen *et al.*, 2005). Sin embargo, se confirma que persiste un grado de activación neurohormonal en estos enfermos y además esta circunstancia hace más fácil la extrapolación de nuestros resultados a la práctica clínica.

En resumen, NT-proBNP muestra una elevada correlación con la función ventricular diastólica y con el índice de masa del ventrículo izquierdo, siendo capaz de discriminar entre pacientes hipertensos hipertróficos y no hipertróficos. Este test presenta una buena capacidad de exclusión de hipertrofia por su elevado valor predictivo negativo. De esta manera, la determinación de NT-proBNP en suero puede ser un buen método para la detección de hipertrofia ventricular izquierda en pacientes hipertensos asintomáticos.

## 2. NIVELES SÉRICOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD

En este estudio se evalúa la relación entre los niveles en suero de NT-proBNP y diferentes parámetros relacionados con la obesidad en un grupo de pacientes obesos y no obesos con hipertensión esencial sin otras enfermedades cardíacas. Los resultados obtenidos muestran que la obesidad no es un determinante independiente de la concentración de NT-proBNP en estos pacientes, incluso en pacientes hipertróficos con cierto grado de disfunción diastólica.

Previamente se ha mostrado que la obesidad está asociada con una menor expresión de los niveles de BNP en pacientes con insuficiencia cardíaca crónica, indicando una reducción en la respuesta de los péptidos natriuréticos en presencia de obesidad (Mehra *et al.*, 2004, Rivera *et al.*, 2005). Wang y col. mostraron que los sujetos obesos sin insuficiencia cardíaca de una población del *Framingham Heart Study* tenían niveles más bajos de BNP y de NT-proBNP que los sujetos delgados (Wang *et al.*, 2004). Además, también mostraron que su grupo de individuos obesos con hipertensión tenían niveles más bajos de

---

péptidos natriuréticos comparados con los sujetos hipertensos no obesos. Sin embargo, este grupo de pacientes era heterogéneo ya que un porcentaje de estos sujetos hipertensos presentaban disfunción ventricular sistólica, infarto de miocardio previo y fibrilación auricular. Das y col. sugirieron que la masa magra (libre de grasa) es la responsable de la asociación entre un elevado índice de masa corporal y bajas concentraciones de BNP y de NT-proBNP en una muestra aleatoria del *Dallas Heart Study* (Das *et al.*, 2005). Así que, después de consultar la literatura científica, podemos decir que ninguno de los trabajos publicados hasta la fecha, pueden explicar la influencia de la obesidad sobre los niveles de NT-proBNP en pacientes con HTA esencial y sin otras enfermedades cardíacas.

Nuestro grupo de pacientes hipertensos sin insuficiencia cardíaca no mostró diferencias estadísticamente significativas en los niveles séricos de NT-proBNP de acuerdo con la obesidad. Estos resultados son diferentes a los publicados en un trabajo previo de nuestro grupo en pacientes con insuficiencia cardíaca (Rivera *et al.*, 2005). Además, cuando focalizamos el estudio en el grupo de pacientes con HVI, obesos y no obesos, hombres y mujeres mostraron niveles similares del péptido natriurético analizado.

La relación entre la baja concentración de péptido natriurético y la obesidad no está todavía completamente aclarado. Algunos autores sugieren que la influencia de la obesidad sobre los péptidos natriuréticos podría ser causada por un incremento en la expresión del receptor tipo C de BNP por el tejido adiposo, resultando en un incremento en el aclaramiento de BNP en sujetos obesos (Wang *et al.*, 2004). Sin embargo, la relación entre NT-proBNP y NT-proANP con el índice de masa corporal sugiere que otro mecanismo diferente al del aclaramiento debe ser considerado, ya que estos péptidos no son aclarados por receptores específicos. Más recientemente, algunos autores han sugerido que la disminución en la síntesis y liberación de péptidos natriuréticos en los cardiomiocitos debería explicar la correlación entre un índice de masa corporal elevado y la baja concentración de péptidos natriuréticos (Rivera *et al.*, 2005, Das *et al.*, 2005). Sin embargo, nuestros pacientes hipertensos mostraron niveles séricos similares de en sujetos obesos y no obesos, incluso en nuestro grupo de pacientes hipertensos asintomáticos con hipertrofia ventricular izquierda. Este hallazgo, cuestionaría la relación

directa entre el tejido adiposo y la síntesis o liberación de NT-proBNP. Así que, el hecho de que en los pacientes hipertensos la obesidad no influya sobre los niveles de NT-proBNP y que en pacientes con insuficiencia cardíaca los pacientes obesos presenten concentraciones más bajas, podría deberse a una mayor eliminación del péptido en insuficiencia cardíaca que en hipertensión. Otra explicación es que, quizás las diferentes interacciones entre el sistema neuroendocrino (catecolaminas, endotelina, eje renina-angiotensina-aldosterona) y sistema inmunológico con los péptidos natriuréticos observado en pacientes con insuficiencia cardíaca e hipertensión podrían determinar una respuesta del sistema de péptidos natriuréticos específica (Frohlich *et al.*, 1983, Rocchini *et al.*, 1989, Leskinen *et al.*, 1997, Hall 2003, Emdin *et al.*, 2004, Ma *et al.*, 2004).

Otra consideración es el hecho de que la influencia de la obesidad sobre los péptidos natriuréticos cuestiona la utilidad de estos biomarcadores para el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades cardíacas en pacientes con un elevado índice de masa corporal. Nuestros datos sugieren que las concentraciones en suero de NT-proBNP son útiles para el diagnóstico o exclusión de HVI independientemente de que el paciente sea obeso o no, ya que nuestros pacientes hipertensos obesos y no obesos mostraron similar área bajo la curva. Sin embargo, el punto de corte óptimo de NT-proBNP sérico fue ligeramente superior en los pacientes obesos con respecto a los no obesos. Además cuando se realizó un análisis de regresión logística para determinar que variables influían sobre las concentraciones de NT-proBNP, sólo la edad, género e índice de masa del ventrículo izquierdo fueron factores predictores independientes de los niveles del péptido en suero. La obesidad no se asoció de manera significativa con la concentración de NT-proBNP en nuestro estudio.

Finalmente, cuando la relación entre la concentración de NT-proBNP y los parámetros relacionados con la obesidad fueron analizados sólo en el grupo de pacientes con HVI, no se obtuvo significación estadística en estas correlaciones. Además, como hemos mencionado en el apartado anterior, únicamente el género, el índice de masa del ventrículo izquierdo, los bloqueadores beta y la función diastólica ( $V_p$ ) fueron predictores independientes de los niveles del péptido en este grupo de pacientes, y la edad mostró una fuerte tendencia.

Una limitación de este estudio es el hecho de que nuestros pacientes estaban sometidos a tratamiento farmacológico, y se sabe que los puntos de corte de NT-proBNP podrían verse afectados por el tratamiento con diuréticos, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, antagonistas de los receptores tipo II de la angiotensina o bloqueadores beta (Troughton *et al.*, 2000, Tsutamoto *et al.*, 2001, Latini *et al.*, 2002, Olsen *et al.*, 2005). Sin embargo, los porcentajes de los tratamientos fueron similares en el grupo de obesos y de no obesos. Otro aspecto a considerar, es que alguno de los pacientes no obesos tenía sobrepeso. Sin embargo, la obesidad se incluyó como una variable continua en el análisis multivariable (índice de masa corporal) y no resultó ser factor predictivo independiente de los niveles séricos de NT-proBNP.

En resumen, no hemos encontrado evidencias de que haya diferencias en los niveles en suero de NT-proBNP entre individuos asintomáticos obesos y no obesos con hipertensión esencial, con o sin HVI. Tampoco hemos observado ninguna asociación estadísticamente significativa entre la obesidad y los niveles bajos de NT-proBNP en suero. Estos resultados son diferentes a los obtenidos en estudios publicados previamente en la literatura en pacientes con insuficiencia cardíaca, y plantean interrogantes sobre el papel de la obesidad *per se*, considerada como causa primaria de la disminución de los niveles de NT-proBNP, en otras situaciones fisiopatológicas.

### 3. NIVELES URINARIOS DE NT-proBNP EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON SUS CONCENTRACIONES SÉRICAS, CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

Aunque existen algunos estudios en los que se evalúe de manera directa el poder predictivo de hipertrofia de los niveles en suero de NT-proBNP en la hipertensión esencial (Mueller *et al.*, 2005, Mouly-Bertin *et al.*, 2008, Morillas *et al.*, 2008), el cálculo de su valor en la orina, ya demostrado en la insuficiencia cardíaca y en la disfunción sistólica (Ng *et al.*, 2004, Ng *et al.*, 2005, Cortés *et al.*, 2006, Roselló-Lletí *et al.*, 2007), no se ha medido hasta la fecha en pacientes con HTA. En este estudio, hemos calculado por primera vez los niveles

---

urinarios de NT-proBNP en pacientes diagnosticados de hipertensión esencial y hemos obtenido su capacidad para detectar la presencia de hipertrofia ventricular izquierda (HVI).

En algunos trabajos previos, se ha demostrado una relación directa entre el aumento de masa ventricular izquierda y los niveles séricos de NT-proBNP en pacientes hipertensos (Hildebrandt *et al.*, 2004, Belluardo *et al.*, 2006). En nuestro grupo de estudio hemos obtenido que los pacientes con hipertrofia mostraron los niveles más altos del péptido tanto en suero como en orina, pero no obtuvimos diferencias significativas al comparar los niveles urinarios y séricos de este péptido en pacientes hipertensos sin hipertrofia y el grupo control. Además, los valores urinarios de NT-proBNP correlacionaron positivamente con el índice de masa del ventrículo izquierdo.

Por otro lado, hemos obtenido una buena correlación entre los valores séricos y urinarios de NT-proBNP con o sin normalización por creatinina urinaria. Esta relación coincide con lo que ya se ha publicado en estudios anteriores en la insuficiencia cardiaca (Cortés *et al.*, 2006). El origen de NT-proBNP urinario no está totalmente explicado, los miocitos cardiacos son una fuente importante, pero se ha comprobado que las células del túbulo renal también producen este péptido (Vesely 2003, Schou *et al.*, 2005). Es decir, los niveles urinarios reflejarían la síntesis renal de NT-proBNP y la cantidad de este péptido filtrado que ha sido previamente producido en el miocardio, puesto que la excreción renal es el principal mecanismo de eliminación de NT-proBNP (Wahl *et al.*, 2004). Estos hechos nos hicieron pensar en una posible correlación entre los niveles de NT-proBNP en plasma y orina, como finalmente hemos encontrado.

Para analizar como algunas variables afectan a los niveles urinarios de NT-proBNP en la hipertensión realizamos una regresión lineal múltiple. La edad, el índice de masa del ventrículo izquierdo y los niveles séricos de NT-proBNP fueron predictores independientes de las concentraciones urinarias de este marcador en nuestros pacientes hipertensos. Estos resultados son extrapolables a los obtenidos anteriormente en pacientes con insuficiencia cardiaca en los que los niveles séricos de NT-proBNP también juegan un papel importante (Cortés *et al.*, 2006). Además, trabajos anteriores han establecido que la edad influye sobre los niveles de péptidos natriuréticos en suero

(Redfield *et al.*, 2002), y que existe una relación directa entre el aumento del índice de masa del ventrículo izquierdo y este marcador (Rivera *et al.*, 2004, Belluardo *et al.*, 2006). El hecho de que estas variables influyan sobre los niveles urinarios de NT-proBNP obtenidos, confirma el prometedor valor que podría tener la determinación de este marcador en orina.

Por otra parte, hemos realizado una curva ROC en la que obtuvimos que bajo las condiciones designadas para nuestra muestra de pacientes, la medida en orina de NT-proBNP normalizada por la creatinina urinaria tuvo un área bajo la curva altamente significativa con una buena capacidad discriminativa ( $ABC = 0,71$ ,  $p < 0,0001$ ) entre pacientes con y sin HVI, siendo como ya sucede en sus medidas séricas su valor de exclusión diagnóstica (valor predictivo negativo) el aspecto de mayor utilidad. Esta ABC fue similar a la obtenida para los niveles de orina de NT-proBNP sin normalizar ( $ABC = 0,73$ ,  $p < 0,0001$ ). Este hecho coincide con lo publicado por Ng y col., y difiere de los resultados obtenidos en un trabajo previo por Michielsen y col., donde muestran que la capacidad predictiva para insuficiencia cardiaca de los niveles urinarios de NT-proBNP mejoran al normalizar por la creatinina en orina. Sin embargo, cabe destacar que en este trabajo se estudiaba un número escaso de pacientes diagnosticados de insuficiencia cardiaca en clase funcional muy deteriorada (III-IV) y con disfunción renal. Además, el hecho de que la normalización de los niveles urinarios de NT-proBNP por la creatinina en orina no mejore el poder predictivo de NT-proBNP para la HVI, nos hace pensar que ambas moléculas, en nuestros pacientes, podrían no compartir la misma cinética de filtración en el glomérulo renal, necesitándose estudios futuros para aclarar esta importante cuestión.

Finalmente, cuando realizamos un análisis de regresión logística, los niveles de NT-proBNP en orina normalizados por la creatinina por encima de 37 pg/mg fueron un buen predictor independiente de HVI. El hecho de que la edad sea también un factor predictor de HVI coincide con lo ya publicado en estudios previos en los cuales se muestra una elevada prevalencia de hipertrofia en sujetos ancianos (Lavie *et al.*, 2006).

Como hemos mencionado en los apartados anteriores, una limitación común de este tipo de análisis es que los pacientes con HTA esencial reciben terapia convencional y sabemos que varios fármacos pueden variar los niveles

de NT-proBNP. Sin embargo, se confirma que persiste un grado de activación neurohormonal en estos enfermos y que los valores urinarios de NT-proBNP son útiles con propósitos diagnósticos. Además, este estudio no se ha diseñado como un estudio poblacional sino como un estudio de casos y controles con las limitaciones que ello conlleva. El desarrollo de un estudio poblacional añadiría valor a los resultados obtenidos aquí.

En este estudio hemos utilizado para el análisis la primera orina de la mañana como ya se ha hecho previamente en otros trabajos (Cortés *et al.*, 2006). Este tipo de procedimiento es más sencillo que la recogida de 24 horas y como ya se ha mostrado con anterioridad obtiene buenos resultados.

En resumen, la determinación de la concentración de NT-proBNP en orina podría ser útil debido a su carácter no invasivo y su simplicidad (aspectos especialmente valiosos en la consulta de un médico de atención primaria). El poder preservar esa sencillez de cálculo es un aspecto a valorar en la proyección clínica de nuestra propuesta. En este estudio se muestra que NT-proBNP puede ser cuantificado en la orina de pacientes hipertensos y que su concentración urinaria es un nuevo marcador para el diagnóstico de HVI en sujetos con hipertensión esencial. La normalización de los valores urinarios de NT-proBNP por creatinina en orina no mejora los resultados obtenidos en nuestros enfermos. Estos hallazgos abren la posibilidad de utilizar este análisis relativamente simple y no invasivo en condiciones específicas en las que la obtención de muestras plasmáticas pueda resultar especialmente problemática o cuando su utilización se considere más apropiada.

---

#### 4. VARIABILIDAD DE LOS NIVELES DE NT-proBNP EN SUERO EN PACIENTES ESTABLES CON HIPERTENSIÓN ESENCIAL, EN UN SEGUIMIENTO A DOS AÑOS

En un grupo homogéneo y representativo de la población hipertensa, encontramos buena estabilidad en los niveles de NT-proBNP en pacientes con hipertensión arterial (HTA) e hipertrofia ventricular izquierda (HVI), clínica y funcionalmente estables, en un seguimiento de 12 (fase I) y 24 meses (fase II). Este es el primer estudio en el que se evalúan los cambios de las concentraciones de NT-proBNP en el tiempo en pacientes asintomáticos con HTA esencial, esto nos permitirá conocer su utilidad en la práctica clínica.

La presencia de HVI afecta negativamente al pronóstico de los pacientes con HTA esencial. NT-proBNP puede predecir eventos en pacientes con hipertensión e HVI sin disfunción ventricular y sin enfermedad renal, independientemente de factores de riesgo cardiovascular clásicos, como una elevada presión arterial (Olsen *et al.*, 2004). En este estudio, evaluamos la variación biológica de los niveles en suero de NT-proBNP en un seguimiento a 24 meses de pacientes hipertensos asintomáticos clínicamente estables. El conocimiento de las variaciones de los niveles de NT-proBNP es crucial antes de su uso clínico para monitorizar pacientes hipertensos.

En este grupo de pacientes hipertensos no hubo ningún evento cardiovascular durante el seguimiento, tampoco presentaron diferencias en la función ventricular, salvo para la fracción de eyección que mostró una variación significativa en la fase II (a los 24 meses) con respecto a los valores basales en el grupo de pacientes hipertensos no hipertróficos (61% *versus* 59%) y creemos que este mínimo cambio podría atribuirse a la metodología utilizada (Sievers *et al.*, 2005). Además, encontramos diferencias estadísticamente significativas en los valores de tensión arterial y colesterol total en ambos grupos (hipertróficos y no hipertróficos), estas variables pueden haber disminuido en el tiempo probablemente como consecuencia del tratamiento. En un principio podríamos pensar que estos cambios en los valores de presión sanguínea pueden afectar a las concentraciones del péptido natriurético durante el seguimiento. Sin embargo, estudios previos han mostrado que la tensión arterial (sistólica y diastólica) y los niveles de colesterol total no son predictores

---

independientes de los niveles de péptidos natriuréticos en pacientes hipertensos (Toda *et al.*, 2010).

Cuando comparamos los niveles de NT-proBNP en el tiempo de acuerdo con la presencia de hipertrofia, sólo encontramos cambios significativos en la fase II con respecto a los valores basales en el grupo de pacientes hipertensos no hipertróficos, pero en los pacientes hipertróficos los niveles de NT-proBNP se mantuvieron estables. Además, obtuvimos una buena correlación entre las concentraciones de NT-proBNP en las tres fases del estudio, siendo más elevada en el grupo de hipertróficos. Estos resultados prueban que hay una mayor estabilidad en los niveles de NT-proBNP en los pacientes hipertróficos con respecto a los no hipertróficos.

El porcentaje de cambio en los pacientes hipertensos con hipertrofia en el periodo de seguimiento (24 meses) presentó una desviación estándar menor del 19%. En el grupo de pacientes hipertensos no hipertróficos la desviación estándar fue menor del 29%. Estas diferencias entre los resultados obtenidos en los dos grupos de estudio pueden deberse a que los niveles del péptido están estrechamente regulados por mecanismos fisiopatológicos específicos, y aunque el estiramiento de los miocitos cardiacos es considerado el principal estímulo cardíaco para la secreción de NT-proBNP, ciertas condiciones fisiológicas pueden también estimular la liberación del péptido (Harada *et al.*, 1998, Hopkins *et al.*, 2004). En otras palabras, en pacientes que presentan HVI hay un estímulo predominante para la síntesis de NT-proBNP que es la tensión de la pared cardíaca (de Bold *et al.*, 1996), sin embargo, en pacientes sin hipertrofia las concentraciones del péptido en el torrente sanguíneo pueden ser consecuencia de diversas y variables condiciones fisiológicas como la edad, el género o el incremento en la presión de llenado del ventrículo izquierdo con función sistólica normal (Isnard 2008). Además, los métodos analíticos para la determinación de NT-proBNP presentan cierta variabilidad y esto puede llevar a que aparezca un mayor porcentaje de variación en pacientes que muestran bajos valores del péptido, es decir, una menor variabilidad intraindividual puede reflejar una menor variabilidad a altas concentraciones.

Una consecuencia clínica importante de nuestro estudio es el establecimiento de un porcentaje de cambio, a partir del cual podemos monitorizar la progresión de estos pacientes. De esta manera, nosotros

sugerimos que todas las variaciones en las medidas de NT-proBNP con un coeficiente de reproducibilidad por encima de 47% y 57% en pacientes sin HVI, puede ser considerado de valor clínico potencial en un estudio de seguimiento a 12 y 24 meses. En el grupo con hipertrofia valores por encima del 33% a los 12 meses y 36% a los 24 meses de seguimiento, podrían ser considerados como un incremento en el riesgo cardiovascular, y por lo tanto implicar ajustes en el tratamiento médico, independientemente de la situación clínica, ya que probablemente la terapia a la que están sometidos no es la adecuada. Nosotros pensamos que podría haber un cambio en el uso clínico de los péptidos natriuréticos mejorándose el manejo de los pacientes con hipertensión e hipertrofia en el tiempo. En un estudio previo, nuestro grupo estableció un coeficiente de reproducibilidad similar en pacientes con insuficiencia cardíaca (25%) en un seguimiento a 24 meses (Cortés *et al.*, 2007).

De nuevo, una limitación de este estudio es que nuestros pacientes estaban bajo tratamiento farmacológico y como sabemos los niveles de NT-proBNP pueden verse alterados por algunos fármacos (Troughton *et al.*, 2000, Tsutamoto *et al.*, 2001, Olsen *et al.*, 2005). No obstante, esta circunstancia hace más fácil extrapolar nuestros datos a la práctica clínica. Por otra parte, tenemos que admitir que un mayor número de pacientes proporcionaría información adicional, sin embargo los estrictos criterios de inclusión-exclusión que hemos considerado dan a nuestros resultados un gran valor. Otra consideración importante, es que los pacientes seleccionados estaban clínicamente estables sin cambios clínicos ni funcionales, pero no podemos descartar la posibilidad de cambios sutiles en el sistema neurohormonal e inmunológico que podrían influir potencialmente en la variabilidad de los niveles de péptidos natriuréticos. Sin embargo, nosotros pensamos que debido a esto, nuestros datos son más útiles para juzgar las variaciones clínicas en los niveles de NT-proBNP que tienen una aplicación práctica evidente. Por otra parte, aunque pensamos que los péptidos natriuréticos pueden ser utilizados para monitorizar pacientes hipertensos, este estudio no ha sido diseñado para establecer una frecuencia óptima de toma de muestras de control. Además, sería interesante desde el punto de vista clínico conocer si un incremento en los valores séricos de NT-proBNP por encima de su variabilidad intrínseca, se asocia con eventos

---

cardiovasculares después de los dos años de seguimiento. En este sentido futuros estudios podrán clarificar este punto.

En resumen, este estudio muestra que hay una buena estabilidad en los niveles de NT-proBNP en un seguimiento a 24 meses de pacientes asintomáticos con hipertensión e hipertrofia, clínica y funcionalmente estables. Como consecuencia, la evaluación de las concentraciones de NT-proBNP puede ser una herramienta útil para monitorizar el seguimiento de pacientes hipertensos con HVI. Las variaciones medidas en los niveles del péptido que superen el 33% en 12 meses de seguimiento y 36% en 24 meses de seguimiento, pueden indicar un incremento en el riesgo cardiovascular, y por lo tanto implicar ajustes en el tratamiento.

## 5. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA HVI Y CON LA FUNCIÓN VENTRICULAR DIASTÓLICA

En este estudio, evaluamos la relación de diversos marcadores de inflamación con la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) en un grupo de pacientes con hipertensión esencial y además, también analizamos su poder diagnóstico y predictivo de hipertrofia, de la misma manera que lo hicimos anteriormente con los niveles NT-proBNP. El estrés de pared ventricular es el principal factor que estimula la síntesis y liberación de péptidos natriuréticos desde los cardiomiocitos (Hasegawa *et al.*, 1993, Nishigaki *et al.*, 1996). Este estrés también produce un incremento en los niveles de citocinas, y a su vez, estas citocinas amplifican la señal, ya que poseen un efecto pleiotrópico (Nian *et al.*, 2004). Además, se pueden detectar niveles elevados de citocinas antes de la activación neurohormonal en la insuficiencia cardíaca temprana (Mann 1999).

Este es uno de los primeros estudios que muestran la posible relación entre una tensión arterial elevada e HVI con la activación inflamatoria en pacientes con hipertensión esencial, utilizando marcadores de inflamación bien establecidos en cardiología, receptores solubles del factor de necrosis tumoral

---

alfa (sTNF-R1 y sTNF-R2), interleucina-6 (IL-6) y el antagonista del receptor de la interleucina-1 (IL-1ra) (Pai *et al.*, 2004).

Los resultados de este estudio muestran que el perfil de las citocinas y receptores de citocinas circulantes, está alterado en pacientes con hipertensión esencial. Hubo un incremento significativo en los niveles en plasma de estos marcadores de inflamación en el grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia cuando los comparamos con los hipertensos no hipertróficos. Aunque los mecanismos moleculares por los cuales una elevada presión sanguínea lleva a inflamación no están claros, algunos trabajos han mostrado que las anormalidades en la producción de citocinas en pacientes hipertensos reflejan la activación de los monocitos inducida por el daño endotelial, como resultado directo del estrés mecánico producido por el incremento en la presión sanguínea (Liu *et al.*, 1996). Anormalidades metabólicas como la dislipemia, resistencia a la insulina, diabetes y obesidad, también causan inflamación endotelial, y a través de este mecanismo puede llegarse a un aumento de la presión sanguínea (Björntorp *et al.*, 2000), sugiriéndose que la inflamación crónica podría ser un *link* común entre factores de riesgo cardiovascular y la hipertensión. Sin embargo, a pesar de todos los hallazgos obtenidos hasta la fecha, todavía no existen datos en humanos para afirmar una posible relación causa-efecto entre citocinas e hipertensión. Además, nuestros resultados están en concordancia con los estudios *in vitro* publicados previamente, en los cuales se muestra una relación entre diversas citocinas y la hipertrofia de cardiomiocitos (Yokoyama *et al.*, 1997, Lim *et al.*, 2005, Nishikawa *et al.*, 2006, Fredj *et al.*, 2005). Sin embargo, son limitados los estudios en los que se analicen los niveles de marcadores inflamatorios en pacientes hipertensos con HVI (Leibowitz *et al.*, 2005, López *et al.*, 2007).

Hemos observado correlaciones significativas entre las concentraciones de las citocinas analizadas con la tensión arterial y con el índice de masa del ventrículo izquierdo. Algunos trabajos publicados previamente, ya habían mostrado una relación directa entre IL-6 e IL-1ra con la presión arterial (Peeters *et al.*, 2001, Chae *et al.*, 2001, Bautista *et al.*, 2005).

Cuando realizamos un análisis de regresión lineal multivariable, los niveles de sTNF-R1, el tiempo de evolución de la hipertensión, índice de masa corporal, filtrado glomerular renal, y la función diastólica (Vp) fueron

predictores independientes del índice de masa del ventrículo izquierdo. La falta de significación del otro receptor del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R2), enfatiza las diferencias estructurales y funcionales de estos dos receptores (Valgimigli *et al.*, 2005). Un aspecto a considerar es que los dos grupos de pacientes hipertensos estudiados con y sin hipertrofia del ventrículo izquierdo no resultaron pareados por edad ( $65 \pm 13$  vs.  $53 \pm 11$  años). No obstante, las variables introducidas en el análisis de regresión lineal se ajustaron por esta variable, hecho que da validez a nuestros resultados.

Un interesante hallazgo es que estos marcadores de inflamación son capaces de detectar HVI. El análisis de curva ROC realizado sugiere que bajo las condiciones de este estudio, todas las citocinas analizadas obtuvieron un área bajo la curva significativa, siendo sTNF-R1 el mejor discriminante de pacientes hipertensos con y sin HVI.

Además, cuando se realizó un análisis de regresión logística para determinar el poder de predicción de hipertrofia de estos marcadores, únicamente sTNF-R1 (incluido en el modelo como una variable categórica, de acuerdo con el punto de corte óptimo seleccionado de la curva ROC) fue predictor independiente. El hecho de que la edad y la función diastólica (Vp) sean factores predictivos independientes de HVI, está en concordancia con estudios previos donde se muestra una mayor prevalencia de hipertrofia en individuos ancianos, que en cierto grado va acompañada de disfunción diastólica (Lavie *et al.*, 2006).

Es necesaria la realización de más trabajos para entender completamente el papel de las citocinas estudiadas, en el desarrollo y evolución de la HTA esencial. Las concentraciones de citocinas podrían llegar a ser consideradas como dianas terapéuticas y cambiar el pronóstico de los pacientes hipertensos, ya que en estos individuos el desarrollo de HVI se asocia con una elevada mortalidad cardiovascular.

Una limitación común en estos estudios es el hecho de que los pacientes están recibiendo una terapia convencional, y se sabe que varios fármacos pueden disminuir las concentraciones de citocinas. Concretamente, los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina y los bloqueadores beta se ha visto que disminuyen los niveles plasmáticos de citocinas

inflamatorias y antiinflamatorias (Ohtsuka *et al.*, 2001, Manabe *et al.*, 2005), aunque todavía no se han evaluado *in vivo* los efectos de estos medicamentos sobre las citocinas analizadas. Sin embargo, este estudio confirma que un alto grado de activación inmunológica persiste en pacientes hipertensos incluso durante el tratamiento con una terapia estándar y además esta activación puede ser detectada en plasma. Por otra parte, el estudio de los niveles de citocinas en sangre venosa periférica es menos preciso que las concentraciones obtenidas en el seno coronario (Imaizumi *et al.*, 2007, Radaelli *et al.*, 2007). Otro aspecto a considerar es que se trata de un estudio transversal que no está diseñado para determinar los mecanismos fisiopatológicos, con nuestros resultados no podemos establecer una posible relación causa-efecto entre las citocinas y la hipertensión. Sin embargo, este trabajo determina el papel predictivo y la asociación de los niveles de diversas citocinas con la HVI en un grupo de pacientes asintomáticos con HTA esencial. Finalmente, la falta de estandarización de los inmunoensayos de citocinas, así como la precisión diagnóstica (puntos de corte óptimos de la curva ROC), pueden depender de la selección de los pacientes, de las citocinas analizadas, así como también del inmunoensayo elegido.

En resumen, los niveles plasmáticos de citocinas correlacionaron con la tensión arterial y con el índice de masa del ventrículo izquierdo en pacientes hipertensos. sTNF-R1 es un predictor independiente del índice de masa del ventrículo izquierdo y de hipertrofia. Estos hallazgos demuestran que existe una relación entre la activación del sistema inmunológico y la presencia de HVI en pacientes asintomáticos con hipertensión esencial.

## 6. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LA OBESIDAD

El tejido adiposo, ha sido reconocido como un órgano endocrino activo (Zhang *et al.*, 1994) y además, se ha visto que en los sujetos obesos, este tejido representa una importante fuente de citocinas proinflamatorias. La obesidad está relacionada no sólo con un incremento en el tamaño y número de los adipocitos, sino también con una mayor infiltración de mácrófagos en el tejido adiposo (Cinti 2002, Wellen y Hotamisligil 2003). Sin embargo, se desconoce

---

como el incremento en la acumulación de lípidos que se da en la obesidad causa un estado de inflamación y como esto está relacionado con la hipertensión. Por otra parte, se ha visto que además de la obesidad, otras anormalidades metabólicas como la dislipemia, resistencia a la insulina y la diabetes causan inflamación endotelial, y a través de este mecanismo puede llegarse a un aumento de la presión sanguínea (Björntorp *et al.*, 2000). Además hay evidencias que sugieren que la obesidad está asociada con un estado de inflamación que induce resistencia a la insulina y disfunción endotelial (Chudek y Wiecek 2006). También, se ha publicado que diversos mediadores inflamatorios, concretamente la proteína C reactiva, TNF-alfa y TGF- $\beta$ , están relacionados con daño cardiovascular en pacientes hipertensos con síndrome metabólico (Sciarretta *et al.*, 2007).

En nuestra población de estudio hemos observado que hay un incremento significativo en los niveles de sTNF-R1, sTNF-R2, IL-6 e IL-1ra en los pacientes hipertensos obesos al compararlos con los no obesos. Además, los niveles de estas citocinas correlacionan significativamente con el índice de masa corporal y con el perímetro de cintura. Sin embargo, al considerar únicamente el grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI), y comparar los niveles de estos marcadores de inflamación entre obesos y no obesos, no hemos obtenido diferencias estadísticamente significativas, excepto para IL-1ra. Pero al considerar sólo el grupo de pacientes hipertensos sin hipertrofia las diferencias entre obesos y no obesos aumentan, aunque sólo de manera significativa para IL-6 e IL-1ra. Es decir, parece que la presencia de obesidad influye en mayor medida sobre los niveles de citocinas si excluimos a los pacientes con HVI, ya que en el grupo de pacientes hipertróficos, aunque presentan un mayor índice de masa corporal, existen otros factores asociados con el elevado índice de masa del ventrículo izquierdo, como la edad o la tensión arterial (el grupo de pacientes hipertróficos tiene mayor edad y tensión arterial que los no hipertróficos), que influyen sobre las concentraciones de estos marcadores inflamatorios. Además, como hemos observado, la presencia de obesidad no influye en el mismo grado sobre las diferentes citocinas, IL-6 e IL-1ra presentan una mayor relación con la obesidad que los receptores solubles de TNF-alfa.

En resumen, los sujetos hipertensos obesos presentan niveles más elevados de marcadores inflamatorios que los hipertensos no obesos. Sin embargo, con la presencia de hipertrofia ventricular izquierda, la influencia de la obesidad sobre las citocinas estudiadas es menor. IL-6 e IL-1ra presentan una mayor relación con la obesidad que los receptores solubles del TNF-alfa en este grupo de pacientes con HTA esencial.

## 7. ACTIVACIÓN INMUNOLÓGICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON LOS NIVELES DE NT-proBNP

Existen diversos trabajos en los que se muestra una relación entre diferentes marcadores inflamatorios y NT-proBNP. En uno de estos estudios, realizado en pacientes con insuficiencia cardiaca con fracción de eyección conservada, los niveles de los receptores solubles del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R1 y sTNF-R2) se correlacionaron significativamente con las concentraciones de NT-proBNP (Niethammer *et al.*, 2008). En un estudio posterior realizado en la población general, se observó que la proteína C reactiva estaba asociada de manera independiente con los niveles de NT-proBNP, después de ajustarse el modelo por edad, género, índice de masa corporal, número de componentes del síndrome metabólico y función renal (Sung *et al.*, 2009).

Sin embargo, hasta la fecha no se ha relacionado la inflamación con los niveles de péptidos natriuréticos en la hipertensión esencial. En el presente trabajo hemos mostrado que existe una buena correlación directa entre NT-proBNP y los receptores solubles del TNF-alfa, sobre todo con sTNF-R1. También existe una relación entre los niveles del péptido con IL-6 e IL-1ra aunque en estos casos dicha asociación es menor. Estos resultados están en concordancia con los análisis que hemos descrito previamente, en los cuales hemos visto que una mayor síntesis de NT-proBNP y de sTNF-R1 se debe en gran medida a una misma causa, el aumento de la masa ventricular izquierda. Por este motivo, parece lógico que exista una buena correlación entre estas dos moléculas y que sin embargo, la correlación con IL-6 e IL-1ra sea menor, ya

que como también hemos visto, una de las principales causas de las concentraciones elevadas de estas dos citocinas es la obesidad y no la hipertrofia, ni la presión sanguínea. Por otra parte, se ha visto que TNF-alfa y sus receptores no son constitutivamente expresados en un corazón normal. Su producción a nivel cardiaco aparece como respuesta a daño en el miocardio (Torre-Amione *et al.*, 1996, Kapadia *et al.*, 1997, Mann 2002, Mann 2003). Además, se ha observado en un modelo experimental de infarto de miocardio, que la elevación de la expresión de citocinas precede el incremento de las metaloproteinasas de matriz en el área infartada, así como el incremento de péptidos natriuréticos (ANP y BNP) y la expresión de colágeno en el miocardio no infartado (Deten *et al.*, 2002). Así que, de la misma manera, puede que en nuestros pacientes con HTA el incremento a nivel cardiaco de la expresión de algunas citocinas como consecuencia del estrés producido por la hipertrofia ventricular izquierda preceda también a la síntesis de péptidos natriuréticos.

En resumen, existe una buena correlación directa entre NT-proBNP y las citocinas analizadas, sobre todo con sTNF-R1, en nuestro grupo de pacientes asintomáticos con hipertensión esencial.

## 8. APOPTOSIS, COLÁGENO INTERSTICIAL Y FUNCIÓN DIASTÓLICA EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL

El presente estudio ofrece varios puntos de vista sobre el papel que juega la apoptosis en pacientes diagnosticados de hipertensión esencial. Primero, los niveles circulantes de PINP y PIIINP se relacionaron con sFas y sTNF-R1 en este grupo de pacientes. Segundo, sFas y sTNF-R1 fueron predictores independientes de las concentraciones de PIIINP. Tercero, observamos que la función diastólica estuvo significativamente correlacionada con los niveles séricos de PINP y PIIINP, y con los niveles plasmáticos de sFas y sTNF-R1.

La cardiopatía hipertensiva es una condición progresiva caracterizada por la hipertrofia ventricular izquierda y el ensanchamiento de la cavidad ventricular izquierda. Estos procesos conducen a anormalidades estructurales

en el miocardio, como fibrosis, vascularización insuficiente y una disminución en el número de células (Fortuño *et al.*, 2001). La muerte celular por apoptosis, junto con la necrosis celular de cardiomiocitos son factores relevantes que contribuyen al remodelado del miocardio en respuesta a la sobrecarga hemodinámica, como ocurre en la hipertensión. Los factores locales que podrían contribuir a la apoptosis son las fuerzas mecánicas, el estrés oxidativo y las citocinas (González *et al.*, 2003). En nuestro estudio, demostramos un incremento significativo en los niveles circulantes de PINP y PIIINP, en pacientes hipertróficos, como se ha publicado en trabajos previos (Díez *et al.*, 1995, Martos *et al.*, 2007). Los colágenos I y III son los más abundantes en el miocardio. El colágeno tipo I tiene pobre especificidad, pero representa la mayoría del colágeno cardíaco y confiere resistencia a la tracción, al estiramiento y la deformación. El colágeno tipo III es menos abundante, pero más específico del corazón (Bishop y Laurent 1995, Zannad *et al.*, 2001). Nuestros resultados no mostraron un aumento significativo de los niveles de PINP en los pacientes hipertensos con respecto al grupo control, como también se había publicado con anterioridad (Martos *et al.*, 2007). Además, obtuvimos un incremento en los niveles de marcadores de apoptosis (sFas y sTNF-R1) en pacientes diagnosticados de hipertensión esencial, pero los niveles más altos los observamos en pacientes con hipertrofia ventricular izquierda.

Entonces, determinamos la posible relación entre estas citocinas con la concentración de procolágeno sérico. Los niveles circulantes de sFas y sTNF-R1 correlacionaron positivamente con PIIINP y PINP, pero la asociación más fuerte fue con PIIINP. Esto sugiere que estas citocinas pueden actuar como reguladores de la síntesis y degradación del colágeno, contribuyendo al remodelado cardíaco. Además, encontramos que los niveles de PIIINP correlacionaban con el índice de masa corporal, sFas y sTNF-R1 después del ajuste por edad, género y tratamiento farmacológico. Este resultado sugiere que los niveles de marcadores de apoptosis pueden estar relacionados con los sitios concretos de fibrosis. En nuestro caso, esta relación con los procesos de remodelado que ocurre en el miocardio de los pacientes hipertensos es bastante específica, puesto que los sujetos que presentan comorbilidades que implican apoptosis en otros órganos fueron excluidos. Además, el hecho de

que el índice de masa corporal estuvo correlacionado significativamente con PIIINP en este grupo de pacientes con hipertensión esencial, está en concordancia con trabajos previos realizados en pacientes diabéticos con retinopatía y en la población general (Arkkila *et al.*, 2001, Wang *et al.*, 2007). Sin embargo, sFas y sTNF-R1 no fueron factores independientes de PINP después de ajustar el modelo por edad, género y medicación. Este hecho, se debe probablemente a que PINP es degradado en las fases tempranas de remodelado y el proceso de apoptosis no parece ser un determinante importante de su síntesis (Yamamoto *et al.*, 2002).

Finalmente, encontramos correlaciones significativas entre parámetros eco-Doppler de función diastólica y niveles circulantes de PIIINP, PINP, sFas y sTNF-R1. Diferentes factores pueden explicar la baja aunque significativa asociación entre las concentraciones de PIIINP y parámetros eco-Doppler de función diastólica: la producción de procolágeno fuera del corazón (López *et al.*, 2010) y que los pacientes con hipertensión muestran bajo grado de remodelado cardíaco en comparación con pacientes con insuficiencia cardíaca o infarto de miocardio (Cicoira *et al.*, 2004, Host *et al.*, 1995). Los niveles de PINP también presentan una correlación significativa con la función diastólica. Además, los marcadores de apoptosis mostraron un mayor grado de asociación con los parámetros de función diastólica que las concentraciones séricas de procolágeno.

Además, algunos de los índices diastólicos analizados se conoce que están relacionados con la presión del llenado ventricular (el incremento de la presión de llenado disminuye el tiempo de relajación isovolumétrica y el tiempo de deceleración). En nuestro estudio, la mejor asociación de los niveles circulantes de PIIINP, PINP, sFas y sTNF-R1, se obtuvo cuando se correlacionaron con la velocidad de propagación del flujo mitral, estimación precisa de la relajación del ventrículo izquierdo e independiente a la precarga relativamente poco sensible (García *et al.*, 2000).

En resumen, este estudio muestra un incremento en los niveles circulantes de péptidos aminoterminales de procolágeno (PIIINP y PINP) y marcadores de apoptosis (sFas y sTNF-R1) en nuestro grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda. Además, los marcadores de fibrosis y los marcadores de apoptosis están significativamente relacionados

entre ellos. Los niveles plasmáticos de sFas y sTNF-R1 son factores independientes de PIIINP, y los parámetros de función diastólica mostraron una relación significativa con los marcadores de fibrosis y de apoptosis. La fibrosis intersticial podría reflejar un proceso de remodelado del miocardio como resultado de la apoptosis individual de cardiomiocitos. De esta manera, un incremento en la cantidad de los factores intrínsecos sFas y sTNF-R1 podría sugerir la activación del proceso de apoptosis y podría estar asociado con un incremento de tejido fibrótico. En este sentido, nuestros resultados podrían implicar nuevas estrategias terapéuticas, las cuales mejorarían la evolución de los pacientes hipertensos.

## 9. NIVELES URINARIOS DE 8-OHdG EN LA HIPERTENSIÓN ESENCIAL. RELACIÓN CON FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR, CON LA HVI Y CON LA INFLAMACIÓN

En el presente estudio hemos evaluado la influencia de la hipertrofia ventricular izquierda (HVI), diferentes factores de riesgo cardiovascular y el estado de inflamación, sobre los niveles de 8-OHdG en un grupo representativo de la población hipertensa. Los pacientes hipertensos con HVI mostraron elevadas concentraciones de este marcador de daño oxidativo y obtuvimos una correlación significativa entre 8-OHdG y el índice de masa del ventrículo izquierdo. Nuestros pacientes con hipertensión no mostraron diferencias significativas en los niveles urinarios de este marcador de acuerdo con la obesidad y diabetes. Sin embargo, el tabaquismo incremento de manera significativa los niveles de 8-OHdG. Además, únicamente el tabaquismo, el género y los niveles plasmáticos de TNF-alfa fueron predictores independientes de 8-OHdG en orina.

Algunos estudios han mostrado que biomarcadores de estrés oxidativo sistémico están elevados en pacientes hipertensos (Redón *et al.*, 2003). También se ha publicado que entre los principales factores de riesgo cardiovascular, la hipertensión es el mayor determinante de estrés oxidativo en una población de elevado riesgo cardiovascular (Fandos *et al.*, 2009). Sin embargo, los resultados publicados sobre la relación entre la presión sanguínea y el estrés oxidativo son

contradictorios. Algunos hallazgos muestran una asociación entre los valores de presión sanguínea y diversos parámetros de estrés oxidativo (Rodrigo *et al.*, 2007), mientras que otros autores han mostrado una ausencia de correlación entre estas variables (Redón *et al.*, 2003). Nuestros resultados indican que los valores de tensión arterial no correlacionan con 8-OHdG en orina en pacientes hipertensos sometidos a tratamiento farmacológico. Estos datos pueden indicar que otros factores relacionados con el estado de hipertensión pueden contribuir al incremento en los niveles de este marcador urinario de estrés oxidativo.

Aunque la obesidad y la diabetes están altamente asociadas con el estrés oxidativo sistémico (Keaney *et al.*, 2003, Wu *et al.*, 2004), se ha publicado que el impacto de diferentes factores de riesgo cardiovascular, como bajos niveles de HDL colesterol, triglicéridos, obesidad abdominal o los niveles de glucosa en ayunas, sobre 8-OHdG genómico y mitocondrial, es mínimo en pacientes con hipertensión esencial (Abdilla *et al.*, 2007). Sin embargo, aunque 8-OHdG en orina es considerado un buen marcador para monitorizar cambios en el grado de estrés oxidativo en pacientes hipertensos (Espinosa *et al.*, 2007), nunca se ha evaluado la influencia de factores de riesgo cardiovascular sobre los niveles de este marcador en pacientes con hipertensión esencial. Nuestros resultados coinciden con los análisis previamente realizados sobre 8-OHdG genómico y mitocondrial (Abdilla *et al.*, 2007), mostrando que los niveles de este marcador urinario de estrés oxidativo no están asociados con la obesidad, diabetes y niveles de colesterol. Además, encontramos mayores concentraciones de 8-OHdG en orina en pacientes hipertensos fumadores que en no fumadores. Estos resultados coinciden con lo publicado previamente en gente sana y en pacientes con cáncer de pulmón (Sakano *et al.*, 2009, Yano *et al.*, 2009). Mientras que la asociación entre el tabaquismo y las enfermedades cardiovasculares está bien establecida, los mecanismos subyacentes no están totalmente esclarecidos. Pero se conoce que el tabaco puede incrementar el estrés oxidativo sistémico, alterar la síntesis del óxido nítrico, causar disfunción endotelial, y además influir sobre factores de riesgo como la tensión arterial (Bernhard y Wang 2007, Zhang *et al.*, 2006, Nakamura *et al.*, 2008, Rahman y Laher 2007). Por otra parte, observamos que los niveles de 8-OHdG son

significativamente diferentes entre mujeres y varones, coincidiendo con lo publicado con anterioridad por otros autores (Wu *et al.*, 2004).

La hipertrofia ventricular es el principal mecanismo de compensación de la sobrecarga hemodinámica en hipertensión y su presencia afecta negativamente al pronóstico de pacientes hipertensos. Aunque numerosos estudios experimentales básicos dan soporte al papel clave del estrés oxidativo en la fisiopatología del remodelado cardiaco y la disfunción (Sabri *et al.*, 2003, Murdoch *et al.*, 2006), datos clínicos que prueben estos resultados siguen siendo escasos. En el presente estudio, mostramos por primera vez, elevadas concentraciones urinarias de 8-OHdG en pacientes hipertensos con HVI al compararse con sujetos no hipertróficos, y obtuvimos una correlación significativa entre este marcador de daño oxidativo y el índice de masa del ventrículo izquierdo. Este hecho muestra que la presencia de HVI está asociada con un incremento de estrés oxidativo incluso en pacientes hipertensos sometidos a tratamiento médico.

Como hemos mostrado anteriormente en el apartado 5 de Resultados, los niveles de diferentes citocinas también estaban incrementados en pacientes hipertensos con HVI. En el presente estudio, obtuvimos una buena correlación entre 8-OHdG y diversos marcadores inflamatorios y encontramos que los niveles plasmáticos de TNF-alfa fueron predictores independientes de las concentraciones urinarias de 8-OHdG. Existe una compleja interacción entre la inflamación mediada por citocinas y el estrés oxidativo. Diversos estudios han mostrado la estrecha relación entre los niveles circulantes de citocinas inflamatorias y diversos marcadores de estrés oxidativo en pacientes hipertensos (Cottone *et al.*, 2006, Cottone *et al.*, 2007, Androulakis *et al.*, 2009). Algunos estudios han sugerido que las citocinas, no sólo inducen la producción de especies reactivas del oxígeno (EROs), sino que la síntesis de citocinas puede estar inducida por EROs (Meldrum *et al.*, 1998, Nakamura *et al.*, 1998, Usui *et al.*, 2000). El incremento en el estiramiento de los cardiomiocitos es el principal factor que induce el crecimiento hipertrófico, pero sustancias circulantes, como productos de estrés oxidativo o citocinas liberadas localmente por las células del miocardio también inducen hipertrofia (Nian *et al.*, 2004). De este modo, parece que no se trata de cascadas de señalización aisladas para cada estímulo o respuesta, sino que se sintetizan múltiples

moléculas de señalización que pueden formar una red de numerosos elementos, facilitando de esta manera su entrecruzamiento.

Este grupo de pacientes hipertensos estaba sometido a tratamiento farmacológico, y es conocido que diferentes medicamentos pueden reducir el grado de estrés oxidativo, aunque ninguno de ellos tomaba vitaminas A, E o C. Concretamente, los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina y los bloqueadores beta se ha visto que disminuyen los niveles de diversos marcadores de estrés oxidativo (Sáez *et al.*, 2004). Sin embargo, este estudio confirma que persiste cierto grado de estrés oxidativo en pacientes hipertensos con HVI incluso durante el tratamiento con una terapia estándar y además este daño puede ser detectado en orina.

En resumen, los niveles urinarios de 8-OHdG están incrementados en pacientes hipertensos con HVI sometidos a tratamiento farmacológico. Sin embargo, la presencia de factores de riesgo cardiovascular, como la obesidad, diabetes e hipercolesterolemia, no alteran las concentraciones de este marcador de estrés oxidativo, aunque el tabaquismo incrementa de manera significativa los niveles en orina de 8-OHdG. Además, encontramos una correlación positiva entre sus niveles y diferentes mediadores inflamatorios, especialmente con TNF-alfa. Únicamente el tabaquismo, el género y los niveles plasmáticos de TNF-alfa fueron predictores independientes de las concentraciones de 8-OHdG. Estos datos sugieren que 8-OHdG en orina podría ser un potencial marcador para prevenir o tratar la HVI en la hipertensión esencial, teniendo en cuenta la influencia del género y del tabaquismo sobre sus niveles.

## VI. CONCLUSIONES

1. Los niveles en suero del fragmento aminoterminal del propéptido natriurético tipo B (NT-proBNP) están incrementados en pacientes con hipertensión esencial e hipertrofia ventricular izquierda al compararlos con pacientes hipertensos sin hipertrofia, los cuales muestran valores similares a los del grupo control. Además, NT-proBNP muestra una elevada correlación con el índice de masa del ventrículo izquierdo y es capaz de discriminar entre pacientes hipertensos hipertróficos y no hipertróficos. Este test presenta una buena capacidad de exclusión de hipertrofia, con un elevado valor predictivo negativo.
2. Los niveles séricos de NT-proBNP muestran una correlación significativa con diferentes parámetros ecocardiográficos de función diastólica en pacientes con hipertensión esencial.
3. No hemos encontrado diferencias en los niveles en suero de NT-proBNP entre individuos obesos y no obesos con hipertensión esencial, con o sin hipertrofia ventricular izquierda. Estos hallazgos contrastan con los estudios publicados previamente en la literatura en pacientes con insuficiencia cardiaca, y plantean interrogantes sobre el papel de la obesidad *per se* considerada como causa primaria de la disminución de los niveles de NT-proBNP, en otras situaciones fisiopatológicas.
4. NT-proBNP puede ser cuantificado en la orina de pacientes hipertensos y su concentración urinaria puede ser un nuevo marcador para el diagnóstico de hipertrofia ventricular izquierda en sujetos con hipertensión esencial. Estos hallazgos abren la posibilidad de utilizar este análisis relativamente simple y no invasivo en condiciones específicas en las que la obtención de muestras sanguíneas pueda resultar especialmente problemática o cuando su utilización se considere más apropiada.
5. Existe una buena estabilidad en los niveles de NT-proBNP en un seguimiento de 24 meses en pacientes asintomáticos con hipertensión e hipertrofia, clínica y funcionalmente estables. Como consecuencia, la

evaluación de las concentraciones de NT-proBNP puede ser una herramienta útil para monitorizar el seguimiento de pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda. Las variaciones en los niveles del péptido que superen el 33% en 12 meses de seguimiento y 36% en 24 meses de seguimiento, pueden indicar un incremento en el riesgo cardiovascular, y por lo tanto implicar ajustes en el tratamiento.

6. Los niveles plasmáticos de diversas citocinas están incrementados en pacientes hipertensos, sobre todo en los hipertróficos. El receptor soluble tipo 1 del factor de necrosis tumoral alfa (sTNF-R1) es un predictor independiente del índice de masa del ventrículo izquierdo y de hipertrofia. Estos hallazgos demuestran que existe una relación entre la activación del sistema inmunológico y la presencia de hipertrofia ventricular izquierda en pacientes con hipertensión esencial.
7. Los niveles plasmáticos de diversas citocinas, especialmente las concentraciones de sTNF-R1, sTNF-R2 e interleucina-6 muestran una correlación significativa con diferentes parámetros ecocardiográficos de función diastólica en pacientes con hipertensión esencial.
8. Los sujetos hipertensos obesos presentan niveles más elevados de marcadores inflamatorios que los hipertensos no obesos. La interleucina-6 y el antagonista del receptor de la interleucina-1, presentan una mayor relación con la obesidad que los receptores solubles del factor de necrosis tumoral alfa.
9. Existe una buena correlación directa entre NT-proBNP y las citocinas analizadas, sobre todo con sTNF-R1, en nuestro grupo de pacientes con hipertensión esencial; estableciéndose una relación entre ambos sistemas neurohormonal e inmunológico.
10. Hay un incremento en los niveles circulantes de propéptidos aminoterminales de procolágeno tipo I y tipo III (PINP y PIIINP) y marcadores de apoptosis (sFas y sTNF-R1) en nuestro grupo de pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda. Además, estas moléculas están significativamente relacionadas entre ellas. Los

parámetros de función diastólica mostraron una correlación significativa con estos marcadores. De esta manera, un incremento en la cantidad de sFas y sTNF-R1 sugiere que existe activación de apoptosis y este proceso puede estar asociado con un incremento de tejido fibrótico y con disfunción diastólica.

11. Los niveles urinarios de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina están incrementados en pacientes hipertensos con hipertrofia ventricular izquierda. Sin embargo, la presencia de factores de riesgo cardiovascular, como la obesidad, diabetes e hipercolesterolemia, no alteran las concentraciones de este marcador de estrés oxidativo, aunque el tabaquismo incrementa de manera significativa sus niveles. Además, encontramos una correlación positiva entre los niveles de esta molécula con diferentes mediadores inflamatorios, especialmente con el factor de necrosis tumoral alfa.

## VII. REFERENCIAS

- Abdilla N, Tormo MC, Fabia MJ, Chaves FJ, Saez G, Redon J. Impact of the components of metabolic syndrome on oxidative stress and enzymatic antioxidant activity in essential hypertension. *J Hum Hypertens.* 2007;21:68-75.
- Adams JM, Cory S. The Bcl-2 protein family: arbiters of cell survival. *Science.* 1998;281:1322-6.
- Alexander RW. Theodore Cooper Memorial Lecture. Hypertension and the pathogenesis of atherosclerosis. Oxidative stress and the mediation of arterial inflammatory response: a new perspective. *Hypertension.* 1995;25:155-61.
- Alfakih K, Reid S, Hall A, Sivananthan MU. The assessment of left ventricular hypertrophy in hypertension. *J Hypertens.* 2006;24:1223-30.
- Algeciras-Schimnich A, Shen L, Barnhart BC, Murmann AE, Burkhardt JK, Peter ME. Molecular ordering of the initial signaling events of CD95. *Mol Cell Biol.* 2002;22:207-20.
- Androulakis ES, Tousoulis D, Papageorgiou N, Tsioufis C, Kallikazaros I, Stefanadis C. Essential hypertension: is there a role for inflammatory mechanisms? *Cardiol Rev.* 2009;17:216-21.
- Anguita M, Montes P, Jordán A, Casares G, Gómez I, Recio J, Martínez A, Zumalde J, Povar J, Ridocci F, Roig E, Batlle E. Utility of NT-proBNP for diagnosing heart failure in a heterogeneous population of patients with dyspnea. Spanish multicenter study. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:465-72.
- Arkkila PE, Rönnemaa T, Koskinen PJ, Kantola IM, Seppänen E, Viikari JS. Biochemical markers of type III and I collagen: association with retinopathy and neuropathy in type 1 diabetic subjects. *Diabet Med.* 2001;18:816-821.
- Ashe PC, Berry MD. Apoptotic signaling cascades. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry.* 2003;27:199-214.
- Ashkenazi A, Dixit VM. Death receptors: signaling and modulation. *Science.* 1998;281:1305-8.

- Ashley FW Jr, Kannel WB. Relation of weight change to changes in atherogenic traits: the Framingham Study. *J Chronic Dis.* 1974;27:103-114.
- Asín Cardiel E, Lombera F, Barrios V. Ecocardiografía en la hipertensión arterial. En: Palma JC, Alegría E, Lombera F, editores. Hipertensión y cardiopatía hipertensiva. Madrid, 1996;58-66.
- Azpilicueta J, García-Fernández MA. Doppler cardíaco: principios e instrumentación. En: García-Fernández MA, editor. Principios y práctica del Doppler cardíaco. Madrid, 1995;1-21.
- Babior BM, Kipnes RS, Curnutte JT. Biological defense mechanisms. The production by leukocytes of superoxide, a potential bactericidal agent. *J Clin Invest.* 1973;52:741-4.
- Babior BM. Oxygen-dependent microbial killing by phagocytes (first of two parts). *N Engl J Med.* 1978;298:659-68.
- Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, de la Cruz Troca JJ, Guallar-Castillón P, del Rey Calero J. Blood pressure in Spain: distribution, awareness, control, and benefits of a reduction in average pressure. *Hypertension.* 1998;32:998-1002.
- Banegas JR, Rodríguez-Artalejo F, Ruilope LM, Graciani A, Luque M, de la Cruz-Troca JJ, García-Robles R, Tamargo J, Rey-Calero J. Hypertension magnitude and management in the elderly population of Spain. *J Hypertens.* 2002;20:2157-64.
- Barbieri M, Ferrucci L, Corsi AM, Macchi C, Lauretani F, Bonafè M, Olivieri F, Giovagnetti S, Franceschi C, Paolisso G. Is chronic inflammation a determinant of blood pressure in the elderly? *Am J Hypertens.* 2003;16:537-43.
- Basterra-Gortari FJ, Bes-Rastrollo M, Seguí-Gómez M, Forga L, Martínez JA, Martínez-González MA. Trends in obesity, diabetes mellitus, hypertension and hypercholesterolemia in Spain (1997-2003). *Med Clin (Barc).* 2007;129:405-8.

- Bautista LE, Vera LM, Arenas IA, Gamarra G. Independent association between inflammatory markers (C-reactive protein, interleukin-6, and TNF-alpha) and essential hypertension. *J Hum Hypertens*. 2005;19:149-54.
- Bay M, Kirk V, Parner J, Hassager C, Nielsen H, Krogsgaard K, Trawinski J, Boesgaard S, Aldershvile J. NT-proBNP: a new diagnostic screening tool to differentiate between patients with normal and reduced left ventricular systolic function. *Heart*. 2003;89:150-4.
- Bayés-Genís A, Santaló-Bel M, Zapico-Muñiz E, López L, Cotes C, Bellido J, Leta R, Casan P, Ordóñez-Llanos J. N-terminal probrain natriuretic peptide (NT-proBNP) in the emergency diagnosis and in-hospital monitoring of patients with dyspnoea and ventricular dysfunction. *Eur J Heart Fail*. 2004;6:301-8.
- Becker LB. New concepts in reactive oxygen species and cardiovascular reperfusion physiology. *Cardiovasc Res*. 2004;61:461-70.
- Belló-Klein A, Bock PM, Travacio M, Senna SM, Llesuy S, de Bittencourt PI Jr, Irigoyen MC, Belló AA, Kumar D, Singal PK. Myocardial oxidative stress and antioxidants in hypertension as a result of nitric oxide synthase inhibition. *Cardiovasc Toxicol*. 2001;1:43-50.
- Belluardo P, Cataliotti A, Bonaiuto L, Giuffrè E, Maugeri E, Noto P, Orlando G, Raspa G, Piazza B, Babuin L, Chen HH, Martin FL, McKie PM, Heublein DM, Burnett JC Jr, Malatino LS. Lack of activation of molecular forms of the BNP system in human grade 1 hypertension and relationship to cardiac hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H1529-35.
- Bernhard D, Wang XL. Smoking, oxidative stress and cardiovascular diseases--do anti-oxidative therapies fail? *Curr Med Chem*. 2007;14:1703-12.
- Betteridge DJ. What is oxidative stress? *Metabolism*. 2000;49:3-8.
- Beutler B, Cerami A. Cachectin/tumor necrosis factor: an endogenous mediator of shock and inflammation. *Immunol Res*. 1986;5:281-93.
- Bialkowski K, Kasprzak KS. A novel assay of 8-oxo-2'-deoxyguanosine 5'-triphosphate pyrophosphohydrolase (8-oxo-dGTPase) activity in

- cultured cells and its use for evaluation of cadmium(II) inhibition of this activity. *Nucleic Acids Res.* 1998;26:3194-201.
- Bishop JE, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. *Eur Heart J.* 1995;16 Suppl C:38-44.
- Björntorp P, Holm G, Rosmond R, Folkow B. Hypertension and the metabolic syndrome: closely related central origin? *Blood Press.* 2000;9:71-82.
- Black RA. Tumor necrosis factor-alpha converting enzyme. *Int J Biochem Cell Biol.* 2002;34:1-5.
- Blake DR, Allen RE, Lunec J. Free radicals in biological systems--a review orientated to inflammatory processes. *Br Med Bull.* 1987;43:371-85
- Borcea V, Nourooz-Zadeh J, Wolff SP, Klevesath M, Hofmann M, Urich H, Wahl P, Ziegler R, Tritschler H, Halliwell B, Nawroth PP. alpha-Lipoic acid decreases oxidative stress even in diabetic patients with poor glycemic control and albuminuria. *Free Radic Biol Med.* 1999;26:1495-500.
- Bresnihan B, Alvaro-Gracia JM, Cobby M, Doherty M, Domljan Z, Emery P, Nuki G, Pavelka K, Rau R, Rozman B, Watt I, Williams B, Aitchison R, McCabe D, Musikic P. Treatment of rheumatoid arthritis with recombinant human interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Rheum.* 1998;41:2196-204.
- Bruins S, Fokkema MR, Römer JWP, Dejongste MJL, Van der Dijs FPL, Van den Ouweland JMW, Muskiet FAJ. High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem.* 2004;50:2052-58.
- Brunner H, Cockcroft JR, Deanfield J, Donald A, Ferrannini E, Halcox J, Kiowski W, Lüscher TF, Mancina G, Natali A, Oliver JJ, Pessina AC, Rizzoni D, Rossi GP, Salvetti A, Spieker LE, Taddei S, Webb DJ; Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and

- Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J Hypertens.* 2005;23:233-46.
- Brunnsgaard H, Pedersen M, Pedersen BK. Aging and proinflammatory cytokines. *Curr Opin Hematol.* 2001;8:131-6.
- Cai H, Harrison DG. Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res.* 2000;87:840-4.
- Capasso JM, Palackal T, Olivetti G, Anversa P. Left ventricular failure induced by long-term hypertension in rats. *Circ Res.* 1990;66:1400-1412.
- Cardillo C, Panza JA. Impaired endothelial regulation of vascular tone in patients with systemic arterial hypertension. *Vasc Med.* 1998;3:138-44.
- Casco VH, Veinot JP, Kuroski de Bold ML, Masters RG, Stevenson MM, de Bold AJ. Natriuretic peptides system gene expression in human coronary arteries. *J Histochem Cytochem.* 2002;50:799-809.
- Chae CU, Lee RT, Rifai N, Ridker PM. Blood pressure and inflammation in apparently healthy men. *Hypertension.* 2001;38:399-403.
- Charles CJ, Espiner EA, Richards AM. Cardiovascular actions of ANF: contributions of renal, neurohumoral, and hemodynamic factors in sheep. *Am J Physiol.* 1993;264:R533-38.
- Chaudhari U, Romano P, Mulcahy LD, Dooley LT, Baker DG, Gottlieb AB. Efficacy and safety of infliximab monotherapy for plaque-type psoriasis: a randomised trial. *Lancet.* 2001;357:1842-7.
- Cheitlin MD, Alpert JS, Armstrong WF, Aurigemma GP, Beller GA, Bierman FZ, Davidson TW, Davis JL, Douglas PS, Gillam LD. ACC/AHA Guidelines for the Clinical Application of Echocardiography. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Clinical Application of Echocardiography). Developed in collaboration with the American Society of Echocardiography. *Circulation.* 1997;95:1686-744.
- Chen CM, Schachter D. Elevation of plasma immunoglobulin A in the spontaneously hypertensive rat. *Hypertension.* 1993;21:731-8.

- Cheung BM. Plasma concentration of brain natriuretic peptide is related to diastolic function in hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1997;24:966-8.
- Chinnaiyan AM, Tepper CG, Seldin MF, O'Rourke K, Kischkel FC, Hellbardt S, Krammer PH, Peter ME, Dixit VM. FADD/MORT1 is a common mediator of CD95 (Fas/APO-1) and tumor necrosis factor receptor-induced apoptosis. *J Biol Chem*. 1996;271:4961-5.
- Chobanian AV, Bakris GL, Black HR, Cushman WC, Green LA, Izzo JL Jr, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT Jr, Roccella EJ; National Heart, Lung, and Blood Institute Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure; National High Blood Pressure Education Program Coordinating Committee. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure: the JNC 7 report. *JAMA*. 2003;289:2560-72.
- Chudek J, Wiecek A. Adipose tissue, inflammation and endothelial dysfunction. *Pharmacol Rep*. 2006;58:81-8.
- Cicoira M, Rossi A, Bonapace S, Zanolla L, Golia G, Franceschini L, Caruso B, Marino PN, Zardini P. Independent and additional prognostic value of aminoterminal propeptide of type III procollagen circulating levels in patients with chronic heart failure. *J Card Fail*. 2004;10:403-411.
- Cinti S. Adipocyte differentiation and transdifferentiation: plasticity of the adipose organ. *J Endocrinol Invest*. 2002;25:823-835.
- Ciulla M, Paliotti R, Hess DB, Tjahja E, Campbell SE, Magrini F, Weber KT. Echocardiographic patterns of myocardial fibrosis in hypertensive patients: endomyocardial biopsy versus ultrasonic tissue characterization. *J Am Soc Echocardiogr*. 1997;10:657-64.
- Claman HN, Chaperon EA, Selner JC. Thymus-marrow immunocompetence. 3. The requirement for living thymus cells. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1968;127:462-6.
- Clauss M, Sunderkötter C, Sveinbjörnsson B, Hippenstiel S, Willuweit A, Marino M, Haas E, Seljelid R, Scheurich P, Suttorp N, Grell M, Risau W.

- A permissive role for tumor necrosis factor in vascular endothelial growth factor-induced vascular permeability. *Blood*. 2001;97:1321-9.
- Clement DL, De Buyzere ML, De Bacquer DA, de Leeuw PW, Duprez DA, Fagard RH, Gheeraert PJ, Missault LH, Braun JJ, Six RO, Van Der Niepen P, O'Brien E; Office versus Ambulatory Pressure Study Investigators. Prognostic value of ambulatory blood-pressure recordings in patients with treated hypertension. *N Engl J Med*. 2003;348:2407-15.
- Clerico A, Emdin M. Diagnostic accuracy and prognostic relevance of the measurement of the cardiac natriuretic peptides: a review. *Clin Chem*. 2004;50:33-50.
- Clerico A, Prontera C, Emdin M, Passino C, Storti S, Poletti R, Zyw L, Zucchelli GC. Analytical performance and diagnostic accuracy of immunometric assays for the measurement of plasma B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal proBNP. *Clin Chem*. 2005;51:445-7.
- Clerico A, Zucchelli GC, Pio A, Passino C, Emdin M. Clinical relevance of biological variation: the lesson of brain natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP assay. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44:366-78.
- Cohen GM. Caspases: the executioners of apoptosis. *Biochem J*. 1997;326:1-16.
- Collinson PO, Barnes DC, Gaze DC, Galasko G, Lahiri A, Senior R. Analytical performance of the N terminal pro B type natriuretic peptide (NT-proBNP) assay on the Elecsys 1010 and 2010 analysers. *Eur J Heart Fail*. 2004;6:365-8.
- Cook SA, Poole-Wilson PA. Cardiac myocyte apoptosis. *Eur Heart J*. 1999;20:1619-29.
- Cooke MS, Evans MD, Burd RM, Patel K, Barnard A, Lunec J, Hutchinson PE. Induction and excretion of ultraviolet-induced 8-oxo-2'-deoxyguanosine and thymine dimers in vivo: implications for PUVA. *J Invest Dermatol*. 2001;116:281-5.
- Cooke MS, Evans MD, Herbert KE, Lunec J. Urinary 8-oxo-2'-deoxyguanosine--source, significance and supplements. *Free Radic Res*. 2000;32:381-97.

- Cortés R, Portolés M, Salvador A, Bertomeu V, García de Burgos F, Martínez-Dolz L, Lletí ER, Climent V, Jordán A, Payá R, Sogorb F, Rivera M. Diagnostic and prognostic value of urine NT-proBNP levels in heart failure patients. *Eur J Heart Fail.* 2006;8:621-7.
- Cortés R, Rivera M, Salvador A, Bertomeu V, de Burgos FG, Roselló-Lletí E, Portolés M, Payá R, Martínez-Dolz L, Climent V. Variability of NT-proBNP plasma and urine levels in patients with stable heart failure: a 2-year follow-up study. *Heart.* 2007;93:957-62.
- Cosentino F, Lüscher TF. Effects of blood pressure and glucose on endothelial function. *Curr Hypertens Rep.* 2001;3:79-88.
- Cosson E, Bringuier AF, Paries J, Guillot R, Vaysse J, Attali JR, Feldmann G, Valensi P. Fas/Fas-Ligand pathway is impaired in patients with type 2 diabetes. Influence of hypertension and insulin resistance. *Diabetes Metab.* 2005;31:47-54.
- Cottone S, Mulè G, Nardi E, Vadalà A, Guarneri M, Briolotta C, Arsena R, Palermo A, Riccobene R, Cerasola G. Relation of C-reactive protein to oxidative stress and to endothelial activation in essential hypertension. *Am J Hypertens.* 2006;19:313-8.
- Cottone S, Mulè G, Nardi E, Vadalà A, Lorito MC, Guarneri M, Arsena R, Palermo A, Cerasola G. C-reactive protein and intercellular adhesion molecule-1 are stronger predictors of oxidant stress than blood pressure in established hypertension. *J Hypertens.* 2007;25:423-8.
- Cottone S, Vadalà A, Vella MC, Mulè G, Contorno A, Cerasola G. Comparison of tumour necrosis factor and endothelin-1 between essential and renal hypertensive patients. *J Hum Hypertens.* 1998;12:351-4.
- Courtois M, Ludbrook PA. Intraventricular pressure transients during relaxation and filling. En: Gaasch WH, LeWinter MM, editores. *Left Ventricula Diastolic Dysfunction and Heart Failure.* Philadelphia 1994;150-66.
- Cracowski JL, Baguet JP, Ormezzano O, Bessard J, Stanke-Labesque F, Bessard G, Mallion JM. Lipid peroxidation is not increased in patients

- with untreated mild-to-moderate hypertension. *Hypertension*. 2003;41:286-8.
- Cracowski JL, Stanke-Labesque F, Souvignet C, Bessard G. Isoprostanes: new markers of oxidative stress in human diseases. *Presse Med*. 2000;29:604-10.
- Criqui MH, Langer RD, Fronek A, Feigelson HS, Klauber MR, McCann TJ, Browner D. Mortality over a period of 10 years in patients with peripheral arterial disease. *N Engl J Med*. 1992;326:381-6.
- Cuspidi C, Meani S, Valerio C, Fusi V, Sala C, Zanchetti A. Left ventricular hypertrophy and cardiovascular risk stratification: impact and cost-effectiveness of echocardiography in recently diagnosed essential hypertensives. *J Hypertens*. 2006;24:1671-7.
- Dahlöf B, Devereux RB, Kjeldsen SE, Julius S, Beevers G, de Faire U, Fyhrquist F, Ibsen H, Kristiansson K, Lederballe-Pedersen O, Lindholm LH, Nieminen MS, Omvik P, Oparil S, Wedel H; LIFE Study Group. Cardiovascular morbidity and mortality in the Losartan Intervention For Endpoint reduction in hypertension study (LIFE): a randomised trial against atenolol. *Lancet*. 2002;359:995-1003.
- Dahlöf B, Sever PS, Poulter NR, Wedel H, Beevers DG, Caulfield M, Collins R, Kjeldsen SE, Kristinsson A, McInnes GT, Mehlsen J, Nieminen M, O'Brien E, Ostergren J; ASCOT Investigators. Prevention of cardiovascular events with an antihypertensive regimen of amlodipine adding perindopril as required versus atenolol adding bendroflumethiazide as required, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial-Blood Pressure Lowering Arm (ASCOT-BPLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*. 2005;366:895-906.
- Dalekos GN, Elisaf MS, Papagalanis N, Tzallas C, Siamopoulos KC. Elevated interleukin-1 beta in the circulation of patients with essential hypertension before any drug therapy: a pilot study. *Eur J Clin Invest*. 1996;26:936-9.
- D'Armiento J. Matrix metalloproteinase disruption of the extracellular matrix and cardiac dysfunction. *Trends Cardiovasc Med*. 2002;12:97-101.

- Das SR, Drazner MH, Dries DL, Vega GL, Stanek HG, Abdullah SM, Canham RM, Chung AK, Leonard D, Wians FH Jr, de Lemos JA. Impact of body mass and body composition on circulating levels of natriuretic peptides: results from the Dallas Heart Study. *Circulation*. 2005;112:2163-8.
- Davies MG, Fulton GJ, Hagen PO. Clinical biology of nitric oxide. *Br J Surg*. 1995;82:1598-610.
- de Bold AJ, Borenstein HB, Veree AT, Sonnenberg H. A rapid and potent natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci*. 1981;28:89-94.
- de Bold AJ, Bruneau BG, Kuroski de Bold ML. Mechanical and neuroendocrine regulation of the endocrine heart. *Cardiovasc Res*. 1996;31:7-18.
- de Bold AJ, Ma KK, Zhang Y, de Bold ML, Bensimon M, Khoshbaten A. The physiological and pathophysiological modulation of the endocrine function of the heart. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001;79:705-14.
- de Leeuw PW, Ruilope LM, Palmer CR, Brown MJ, Castaigne A, Mancía G, Rosenthal T, Wagener G. Clinical significance of renal function in hypertensive patients at high risk: results from the INSIGHT trial. *Arch Intern Med*. 2004;164:2459-64.
- de Leeuw PW, Thijs L, Birkenhager WH, Voyaki SM, Efstratopoulos AD, Fagard RH, Leonetti G, Nachev C, Petrie JC, Rodicio JL, Rosenfeld JJ, Sarti C, Staessen JA; Systolic Hypertension in Europe (Syst-Eur) Trial Investigators. Prognostic significance of renal function in elderly patients with isolated systolic hypertension: results from the Syst-Eur trial. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13:2213-22.
- de Lemos JA, McGuire DK, Drazner MH. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003;362:316-22.
- de Simone G, Muiesan ML, Ganau A, Longhini C, Verdecchia P, Palmieri V, Agabiti-Rosei E, Mancía G. Reliability and limitations of echocardiographic measurement of left ventricular mass for risk stratification and follow-up in single patients: the RES trial. Working Group on Heart and Hypertension of the Italian Society of

- Hypertension. Reliability of M-mode Echocardiographic Studies. *J Hypertens.* 1999;17:1955-63.
- Dempsey PW, Doyle SE, He JQ, Cheng G. The signaling adaptors and pathways activated by TNF superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev.* 2003;14:193-209.
- Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation.* 2001;103:2055-9.
- Deten A, Volz HC, Briest W, Zimmer HG. Cardiac cytokine expression is upregulated in the acute phase after myocardial infarction. Experimental studies in rats. *Cardiovasc Res.* 2002;55:329-40.
- Devereux RB, Alonso DR, Lutas EM, Gottlieb GJ, Campo E, Sanchez I, Reichel N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am J Cardiol.* 1986;57:450-8.
- Devereux RB, de Simone G, Ganau A, Koren MJ, Mensah GA, Roman MJ. Left ventricular hypertrophy and hypertension. *Clin Exp Hypertens.* 1993;15:1025-32.
- Dickinson HO, Mason JM, Nicolson DJ, Campbell F, Beyer FR, Cook JV, Williams B, Ford GA. Lifestyle interventions to reduce raised blood pressure: a systematic review of randomized controlled trials. *J Hypertens.* 2006;24:215-33.
- Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, McMurray JJ, Ponikowski P, Poole-Wilson PA, Strömberg A, van Veldhuisen DJ, Atar D, Hoes AW, Keren A, Mebazaa A, Nieminen M, Priori SG, Swedberg K; ESC Committee for Practice Guidelines, Vahanian a, Camm J, de Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellemans I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the ask Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and chronic Heart Failure 2008 of the European

- Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Cardiac Medicine (ESICM). *Eur Heart J*. 2008;29:2388-442.
- Díez J, Laviades C, Mayor G, Gil MJ, Monreal I. Increased serum concentrations of procollagen peptides in essential hypertension. Relation to cardiac alterations. *Circulation*. 1995;91:1450-6.
- Díez J, Laviades C, Monreal I, Gil MJ, Panizo A, Pardo J. Toward the biochemical assessment of myocardial fibrosis in hypertensive patients. *Am J Cardiol*. 1995;76:14D-17D.
- Díez J, Laviades C. Monitoring fibrillar collagen turnover in hypertensive heart disease. *Cardiovasc Res*. 1997;35:202-5.
- Dillingham MA, Anderson RJ. Inhibition of vasopressin action by atrial natriuretic factor. *Science*. 1986;231:1572-3.
- Dinarello CA. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood*. 1996;87:2095-147.
- Dobrian AD, Schriver SD, Khraibi AA, Prewitt RL. Pioglitazone prevents hypertension and reduces oxidative stress in diet-induced obesity. *Hypertension*. 2004;43:48-56.
- Drexler H. Factors involved in the maintenance of endothelial function. *Am J Cardiol*. 1998;82:3S-4S.
- Dzielak DJ. The immune system and hypertension. *Hypertension*. 1992;19:136-44.
- Emdin M, Clerico A, Clemenza F, Galvani M, Latini R, Masson S, Mulè P, Panteghini M, Valle R, Zaninotto M, Ganau A, Mariotti R, Volpe M, Aspromonte N, Cacciatore G, Cappelletti P, L'Abbate A, Miglio F, Ottani F, Pagani F, Passino C, Plebani M, Sarzani R, Zucchelli G. Italian Association of Hospital Cardiologists; Italian Society of Cardiology; Italian Federation of Cardiology; Italian Society of clinical chemistry and Molecular Biology; Italian Society of Laboratory Medicine; Italian Society of Emergency Medicine. Recommendations for the clinical use of cardiac natriuretic peptides. *Ital Heart J*. 2005;6:430-46.

- Emdín M, Passino C, Prontera C, Iervasi A, Ripoli A, Masini S, Zucchelli GC, Clerico A. Cardiac natriuretic hormones, neuro-hormones, thyroid hormones and cytokines in normal subjects and patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med.* 2004;42:627-36.
- Endo TA, Masuhara M, Yokouchi M, Suzuki R, Sakamoto H, Mitsui K, Matsumoto A, Tanimura S, Ohtsubo M, Misawa H, Miyazaki T, Leonor N, Taniguchi T, Fujita T, Kanakura Y, Komiyama S, Yoshimura A. A new protein containing an SH2 domain that inhibits JAK kinases. *Nature.* 1997;387:921-4.
- Espinosa O, Jiménez-Almazán J, Chaves FJ, Tormos MC, Clapes S, Iradi A, Salvador A, Fandos M, Redón J, Sáez GT. Urinary 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxyguanosine (8-oxo-dG), a reliable oxidative stress marker in hypertension. *Free Radic Res.* 2007;41:546-54.
- Ezzati M, Lopez AD, Rodgers A, Vander Hoorn S, Murray CJ. Comparative Risk Assessment Collaborating Group. Selected major risk factors and global and regional burden of disease. *Lancet.* 2002;360:1347-60.
- Fadok VA, Voelker DR, Campbell PA, Cohen JJ, Bratton DL, Henson PM. Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol.* 1992;148:2207-16.
- Fagard RH, Celis H. Prognostic significance of various characteristics of out-of-the-office blood pressure. *J Hypertens.* 2004;22:1663-6.
- Fandos M, Corella D, Guillén M, Portolés O, Carrasco P, Iradi A, Martínez-González MA, Estruch R, Covas MI, Lamuela-Raventós RM, Michavilla MT, Cerdá C, Torregrosa R, Redón J, Chaves FF, Tormos MC, Ocete D, Sáez GT. Impact of cardiovascular risk factors on oxidative stress and DNA damage in a high risk Mediterranean population. *Free Radic Res.* 2009;43:1179-86.
- Fang X, Zhang X, Yang Q, Dai X, Su F, Rao M, Wu S, Du X, Wang W, Li S. Subtype hypertension and risk of stroke in middle-aged and older Chinese: a 10-year follow-up study. *Stroke.* 2006;37:38-43.

- Ferkolj I. How to improve the safety of biologic therapy in Crohn's disease. *J Physiol Pharmacol*. 2009;60:67-70.
- Ferrari D, Chiozzi P, Falzoni S, Hanau S, Di Virgilio F. Purinergic modulation of interleukin-1 beta release from microglial cells stimulated with bacterial endotoxin. *J Exp Med*. 1997;185:579-82.
- Ferrari R, Bachetti T, Confortini R, Opasich C, Febo O, Corti A, Cassani G, Visioli O. Tumor necrosis factor soluble receptors in patients with various degrees of congestive heart failure. *Circulation*. 1995;92:1479-86.
- Ferroni P, Basili S, Paoletti V, Davì G. Endothelial dysfunction and oxidative stress in arterial hypertension. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2006;16:222-33.
- Fisher C, Berry C, Blue L, Morton JJ, McMurray J. N-terminal pro B type natriuretic peptide, but not the new putative cardiac hormone relaxin, predicts prognosis in patients with chronic heart failure. *Heart*. 2003;89:879-81.
- Forte P, Copland M, Smith LM, Milne E, Sutherland J, Benjamin N. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. *Lancet*. 1997;349:837-42.
- Fortuño MA, Ravassa S, Fortuño A, Zalba G, Díez J. Cardiomyocyte apoptotic cell death in arterial hypertension: mechanisms and potential management. *Hypertension*. 2001;38:1406-12.
- Fouad FM, Slominski JM, Tarazi RC. Left ventricular diastolic function in hypertension: relation to left ventricular mass and systolic function. *J Am Coll Cardiol*. 1984;3:1500-6.
- Francis SE, Holden H, Holt CM, Duff GW. Interleukin-1 in myocardium and coronary arteries of patients with dilated cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol*. 1998;30:215-23.
- Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:758-64.
- Fredj S, Bescond J, Louault C, Delwail A, Lecron JC, Potreau D. Role of interleukin-6 in cardiomyocyte/cardiac fibroblast interactions during myocyte hypertrophy and fibroblast proliferation. *J Cell Physiol*. 2005;204:428-36.

- Freemantle N, Cleland J, Young P, Mason J, Harrison J. beta Blockade after myocardial infarction: systematic review and meta regression analysis. *BMJ*. 1999;318:1730-7.
- Fridovich I. Superoxide radical: an endogenous toxicant. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 1983;23:239-57.
- Fridovich I. The biology of oxygen radicals. *Science*. 1978;201:875-80.
- Frohlich ED, Messerli FH, Reisin E, Dunn FG. The problem of obesity and hypertension. *Hypertension*. 1983;5:III71-8.
- Fukui T, Ishizaka N, Rajagopalan S, Laursen JB, Capers Q 4th, Taylor WR, Harrison DG, de Leon H, Wilcox JN, Griendling KK. p22phox mRNA expression and NADPH oxidase activity are increased in aortas from hypertensive rats. *Circ Res*. 1997;80:45-51.
- Furst DE. Development of TNF inhibitor therapies for the treatment of rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2010;28:S5-12.
- Furumoto T, Fujii S, Mikami T, Inoue M, Nishihara K, Kaga S, Imagawa S, Goto K, Komuro K, Yamada S, Onozuka H, Kitabatake A, Sobel BE. Increased plasma concentrations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide reflect the presence of mildly reduced left ventricular diastolic function in hypertension. *Coron Artery Dis*. 2006;17:45-50.
- Fuse K, Kodama M, Okura Y, Ito M, Hirono S, Kato K, Hanawa H, Aizawa Y. Predictors of disease course in patients with acute myocarditis. *Circulation*. 2000;102:2829-35.
- Gabriel R, Alonso M, Segura A, Tormo MJ, Artigao LM, Banegas JR, Brotons C, Elosua R, Fernández-Cruz A, Muñoz J, Reviriego B, Rigo F; ERICE Cooperative Group. Prevalence, geographic distribution and geographic variability of major cardiovascular risk factors in Spain. Pooled analysis of data from population-based epidemiological studies: the ERICE Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:1030-40.
- Ganau A, Devereux RB, Roman MJ, de Simone G, Pickering TG, Saba PS, Vargiu P, Simongini I, Laragh JH. Patterns of left ventricular

- hypertrophy and geometric remodeling in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol.* 1992;19:1550-8.
- Garcia MJ, Ares MA, Asher C, Rodriguez L, Vandervoort P, Thomas JD. An index of early left ventricular filling that combined with pulsed Doppler peak E velocity may estimate capillary wedge pressure. *J Am Coll Cardiol.* 1997;29:448-54.
- Garcia MJ, Smedira NG, Greenberg NL, Main M, Firstenberg MS, Odabashian J, Thomas JD. Color M-mode Doppler flow propagation velocity is a preload insensitive index of left ventricular relaxation: animal and human validation. *J Am Coll Cardiol.* 2000;35:201-208.
- Garcia MJ, Thomas JD, Klein AL. New Doppler echocardiographic applications for the study of diastolic function. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:865-75.
- Garcia S, Akbar MS, Ali SS, Kamdar F, Tsai MY, Duprez DA. N-terminal pro B-type natriuretic peptide predicts mortality in patients with left ventricular hypertrophy. *Int J Cardiol.* 2010;143:349-52.
- Gardner RS, Chong KS, Morton JJ, McDonagh TA. A change in N-terminal pro-brain natriuretic peptide is predictive of outcome in patients with advanced heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2007;9:266-71.
- Gardner RS, Ozalp F, Murday AJ, Robb SD, McDonagh TA. N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure. *Eur Heart J.* 2003;24:1735-43.
- Gearing AJ, Beckett P, Christodoulou M, Churchill M, Clements J, Davidson AH, Drummond AH, Galloway WA, Gilbert R, Gordon JL. *Nature.* 1994;370:555-7.
- Gery I, Waksman BH. Potentiation of the T-lymphocyte response to mitogens. II. The cellular source of potentiating mediator(s). *J Exp Med.* 1972;136:143-55.
- Ghali JK, Liao Y, Cooper RS. Influence of left ventricular geometric patterns on prognosis in patients with or without coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 1998;31:1635-40.

- Goetze JP, Mogelvang R, Maage L, Scharling H, Schnohr P, Sogaard P, Rehfeld JF, Jensen JS. Plasma pro-B-type natriuretic peptide in the general population: screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2006;27:3004-10.
- Goetze JP. Biochemistry of pro-B-type natriuretic peptide-derived peptides: the endocrine heart revisited. *Clin Chem*. 2004;50:1503-10.
- González A, Fortuño MA, Querejeta R, Ravassa S, López B, López N, Díez J. Cardiomyocyte apoptosis in hypertensive cardiomyopathy. *Cardiovasc Res*. 2003;59:549-562.
- González A, López B, Ravassa S, Querejeta R, Larman M, Díez J, Fortuño MA. Stimulation of cardiac apoptosis in essential hypertension: potential role of angiotensin II. *Hypertension*. 2002;39:75-80.
- González-Clemente JM, Giménez-Pérez G, Richart C, Broch M, Caixàs A, Megia A, Giménez-Palop O, Simón I, Mauricio D, Vendrell J. The tumour necrosis factor (TNF)-alpha system is activated in accordance with pulse pressure in normotensive subjects with type 1 diabetes mellitus. *Eur J Endocrinol*. 2005;153:687-91.
- Goy MF, Oliver PM, Purdy KE, Knowles JW, Fox JE, Mohler PJ, Oian X, Smithies O, Maeda N. Evidence for a novel natriuretic peptide receptor that prefers brain natriuretic peptide over atrial natriuretic peptide. *Biochem J*. 2001;358:379-87.
- Greenwald RA, Moy WW. Effect of oxygen-derived free radicals on hyaluronic acid. *Arthritis Rheum*. 1980;23:455-63.
- Griendling KK, Sorescu D, Ushio-Fukai M. NAD(P)H oxidase: role in cardiovascular biology and disease. *Circ Res*. 2000;86:494-501.
- Grima Serrano A, Alegría Ezquerro E, Jover Estellés P. The prevalence of classic cardiovascular risk factors in a working Mediterranean population of 4996 men. *Rev Esp Cardiol*. 1999;52:910-8.
- Groenning BA, Raymond I, Hildebrandt PR, Nilsson JC, Baumann M, Pedersen F. Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide

- concentrations in a large sample of the general population. *Heart*. 2004;90:297-303.
- Guillén I, Blanes M, Gómez-Lechón MJ, Castell JV. Cytokine signaling during myocardial infarction: sequential appearance of IL-1 beta and IL-6. *Am J Physiol*. 1995;269:R229-35.
- Gupta S. Molecular steps of cell suicide: an insight into immune senescence. *J Clin Immunol*. 2000;20:229-39.
- Gupta S. Molecular steps of death receptor and mitochondrial pathways of apoptosis. *Life Sci*. 2001;69:2957-64.
- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem*. 1995;41:1819-28.
- Guyton AC. Kidneys and fluids in pressure regulation. Small volume but large pressure changes. *Hypertension*. 1992;19:12-8.
- Hall JE, Brands MW, Henegar JR. Angiotensin II and long-term arterial pressure regulation: the overriding dominance of the kidney. *J Am Soc Nephrol*. 1999;12:S258-65.
- Hall JE, Brands MW, Shek EW. Central role of the kidney and abnormal fluid volume control in hypertension. *J Hum Hypertens*. 1996;10:633-9.
- Hall JE. The kidney, hypertension, and obesity. *Hypertension*. 2003;41:625-33.
- Halliwell B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. *Am J Med*. 1991;91:14S-22S.
- Harada M, Saito Y, Kuwahara K, Ogawa E, Ishikawa M, Nakagawa O, Miyamoto Y, Kamitani S, Hamanaka I, Kajiyama N, Takahashi N, Masuda I, Itoh H, Nakao K. Interaction of myocytes and nonmyocytes is necessary for mechanical stretch to induce ANP/BNP production in cardiocyte culture. *J Cardiovasc Pharmacol*. 1998;31:S357-9.
- Harris PJ, Thomas D, Morgan TO. Atrial natriuretic peptide inhibits angiotensin-stimulated proximal tubular sodium and water reabsorption. *Nature*. 1987;326:697-8.

- Harrison D, Griendling KK, Landmesser U, Hornig B, Drexler H. Role of oxidative stress in atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 2003;91:7A-11A.
- Harrison DG. Cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *J Clin Invest.* 1997;100:2153-7.
- Hartmann F, Packer M, Coats AJ, Fowler MB, Krum H, Mohacsi P, Rouleau JL, Tendera M, Castaigne A, Anker SD, Amann-Zalan I, Hoersch S, Katus HA. Prognostic impact of plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide in severe chronic congestive heart failure: a substudy of the Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) trial. *Circulation.* 2004;110:1780-6.
- Hasegawa K, Fujiwara H, Doyama K, Miyamae M, Fujiwara T, Suga S, Mukoyama M, Nakao K, Imura H, Sasayama S. Ventricular expression of brain natriuretic peptide in hypertrophic cardiomyopathy. *Circulation.* 1993;88:372-80.
- Haynes RB, McDonald HP, Garg AX. Helping patients follow prescribed treatment: clinical applications. *JAMA.* 2002;288:2880-3.
- Haynes WG, Hand MF, Johnstone HA, Padfield PL, Webb DJ. Direct and sympathetically mediated venoconstriction in essential hypertension. Enhanced responses to endothelin-1. *J Clin Invest.* 1994;94:1359-64.
- Hehlgans T, Pfeffer K. The intriguing biology of the tumour necrosis factor/tumour necrosis factor receptor superfamily: players, rules and the games. *Immunology.* 2005;115:1-20.
- Heidenreich PA, McDonald KM, Hastie T, Fadel B, Hagan V, Lee BK, Hlatky MA. Meta-analysis of trials comparing beta-blockers, calcium antagonists, and nitrates for stable angina. *JAMA.* 1999;281:1927-36.
- Henry WL, DeMaria A, Gramiak R, King DL, Kisslo JA, Popp RL, Sahn DJ, Schiller NB, Tajik A, Teichholz LE, Weyman AE. Report of the American Society of Echocardiography Committee on Nomenclature and Standards in Two-dimensional Echocardiography. *Circulation.* 1980;62:212-7.

- Heringlake M, Heide C, Bahlmann L, Eichler W, Pagel H, Schmucker P, Wergeland R, Armbruster FP, Klaus S. Effects of tilting and volume loading on plasma levels and urinary excretion of relaxin, NT-proANP, and NT-proBNP in male volunteers. *J Appl Physiol*. 2004;97:173-9.
- Hibi M, Murakami M, Saito M, Hirano T, Taga T, Kishimoto T. Molecular cloning and expression of an IL-6 signal transducer, gp130. *Cell*. 1990;63:1149-57.
- Hildebrandt P, Boesen M, Olsen M, Wachtell K, Groenning B. N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension- a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *Eur J Heart Fail*. 2004;6:313-317.
- Hirano T, Matsuda T, Turner M, Miyasaka N, Buchan G, Tang B, Sato K, Shimizu M, Maini R, Feldmann M. Excessive production of interleukin 6/B cell stimulatory factor-2 in rheumatoid arthritis. *Eur J Immunol*. 1988;18:1797-801.
- Hirano T, Yasukawa K, Harada H, Taga T, Watanabe Y, Matsuda T, Kashiwamura S, Nakajima K, Koyama K, Iwamatsu A. Complementary DNA for a novel human interleukin (BSF-2) that induces B lymphocytes to produce immunoglobulin. *Nature*. 1986;324:73-6.
- Hirose S, Hagiwara H, Takei Y. Comparative molecular biology of natriuretic peptide receptors. *Can J Physiol Pharmacol*. 2001;79:1-8.
- Hopkins WE, Chen Z, Fukagawa NK, Hall C, Knot HJ, LeWinter MM. Increased atrial and brain natriuretic peptides in adults with cyanotic congenital heart disease: enhanced understanding of the relationship between hypoxia and natriuretic peptide secretion. *Circulation*. 2004;109:2872-7.
- Host NB, Jensen LT, Bendixen PM, Jensen SE, Koldkjaer OG, Simonsen EE. The aminoterminal propeptide of type III procollagen provides new information on prognosis after acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 1995;76:869-873.
- Hunt PJ, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM, Yandle TG. Differing biological effects of equimolar atrial and brain natriuretic peptide infusions in normal man. *J Clin Endocrinol Metab*. 1996;81:3871-6.

- Hunt PJ, Richards AM, Espiner EA, Nicholls MG, Yandle TG. Bioactivity and metabolism of C-type natriuretic peptide in normal man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1994;78:1428-35.
- Hunt PJ, Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Doughty RN, Espiner EA. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-proBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol.* 1997;47:287-96.
- Hunt SA, Abraham WT, Chin MH, Feldman AM, Francis GS, Ganiats TG, Jessup M, Konstam MA, Mancini DM, Michl K, Oates JA, Rahko PS, Silver MA, Stevenson LW, Yancy CW. ACC/AHA 2005 Guidelines update for the diagnosis and management of chronic heart failure in the adult. *Circulation.* 2005;20:154-215.
- Igaki T, Itoh H, Suga S, Hama N, Ogawa Y, Komatsu Y, Mukoyama M, Sugawara A, Yoshimasa T, Tanaka I, Nakao K. C-type natriuretic peptide in chronic renal failure and its action in humans. *Kidney Int.* 1996;49:S144-S147.
- Igney FH, Krammer PH. Death and anti-death: tumour resistance to apoptosis. *Nat Rev Cancer.* 2002;2:277-88.
- Iltercil A, Devereux RB, Roman MJ, Paranicas M, O'grady MJ, Welty TK, Robbins DC, Fabsitz RR, Howard BV, Lee ET. Relationship of impaired glucose tolerance to left ventricular structure and function: The Strong Heart Study. *Am Heart J.* 2001;141:992-8.
- Imaizumi T, Nejima J, Kiuchi K, Takeda S, Seino Y, Tanaka K, Takano T. Dynamics and source of endothelin-1 and interleukin-6 following coronary reperfusion in patients with acute myocardial infarction. *J Nippon Med Sch.* 2007;74:131-47.
- Inouye I, Massie B, Loge D, Topic N, Silverstein D, Simpson P, Tubau J. Abnormal left ventricular filling: an early finding in mild to moderate systemic hypertension. *Am J Cardiol.* 1984;53:120-6.
- Inouye M, Mio T, Sumino K. Dicarboxylic acids as markers of fatty acid peroxidation in diabetes. *Atherosclerosis.* 2000;148:197-202.

- Ip NY, Nye SH, Boulton TG, Davis S, Taga T, Li Y, Birren SJ, Yasukawa K, Kishimoto T, Anderson DJ. CNTF and LIF act on neuronal cells via shared signaling pathways that involve the IL-6 signal transducing receptor component gp130. *Cell*. 1992;69:1121-32.
- Isnard R. NT-BNP/BNP for screening left ventricular hypertrophy in hypertension: what else? *Arch Cardiovasc Dis*. 2008;10:295-7.
- Itoh H, Pratt RE, Dzau VJ. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*. 1990;86:1690-7.
- Janicki JS. Collagen degradation in the heart. En: Eghbali-Webb M, editor. *Molecular Biology of Collagen Matrix in the Heart*. Austin 1995;61-76.
- Januzzi JL, van Kimmenade R, Lainchbury J, Bayes-Genis A, Ordonez-Llanos J, Santalo-Bel M, Pinto YM, Richards M. NT-proBNP testing for diagnosis and short-term prognosis in acute destabilized heart failure: an international pooled analysis of 1256 patients: the International Collaborative of NT-proBNP Study. *Eur Heart J*. 2006;27:330-7.
- Jourdan M, Bataille R, Seguin J, Zhang XG, Chaptal PA, Klein B. Constitutive production of interleukin-6 and immunologic features in cardiac myxomas. *Arthritis Rheum*. 1990;33:398-402.
- Juanatey JR, Ezquerro EA, Vidal JV, Caro JL, Acuña JG, Maqueda IG. Impact of hypertension in cardiac diseases in Spain. The CARDIOTENS Study 1999. *Rev Esp Cardiol*. 2001;54:139-49.
- Julius S. Interaction between renin and the autonomic nervous system in hypertension. *Am Heart J*. 1988;116:611-6.
- Juránek I, Bezek S. Controversy of free radical hypothesis: reactive oxygen species--cause or consequence of tissue injury? *Gen Physiol Biophys*. 2005;24:263-78.
- Kannel WB, Cupples LA, Ramaswami R, Stokes J 3rd, Kreger BE, Higgins M. Regional obesity and risk of cardiovascular disease; the Framingham Study. *J Clin Epidemiol*. 1991;44:183-90.
- Kannel WB, Wilson PW, Zhang TJ. The epidemiology of impaired glucose tolerance and hypertension. *Am Heart J*. 1991;121:1268-73.

- 
- Kannel WB. Blood pressure as a cardiovascular risk factor: prevention and treatment. *JAMA*. 1996;275:1571-6.
- Kannel WB. Risk stratification in hypertension: new insights from the Framingham Study. *Am J Hypertens*. 2000;13 Suppl 1:S3-10.
- Kapadia SR, Oral H, Lee J, Nakano M, Taffet GE, Mann DL. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res*. 1997;81:187-95.
- Kapadia SR, Yakoob K, Nader S, Thomas JD, Mann DL, Griffin BP. Elevated circulating levels of serum tumor necrosis factor-alpha in patients with hemodynamically significant pressure and volume overload. *J Am Coll Cardiol*. 2000;36:208-12.
- Kawaguchi Y, Nishimagi E, Tochimoto A, Kawamoto M, Katsumata Y, Soejima M, Kanno T, Kamatani N, Hara M. Intracellular IL-1alpha-binding proteins contribute to biological functions of endogenous IL-1alpha in systemic sclerosis fibroblasts. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006;103:14501-6.
- Kawano S, Kubota T, Monden Y, Kawamura N, Tsutsui H, Takeshita A, Sunagawa K. Blockade of NF-kappaB ameliorates myocardial hypertrophy in response to chronic infusion of angiotensin II. *Cardiovasc Res*. 2005;67:689-98.
- Keaney JF Jr, Larson MG, Vasani RS, Wilson PW, Lipinska I, Corey D, Massaro JM, Sutherland P, Vita JA, Benjamin EJ; Framingham Study. Obesity and systemic oxidative stress: clinical correlates of oxidative stress in the Framingham Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23:434-9.
- Kearney PM, Whelton M, Reynolds K, Muntner P, Whelton PK, He J. Global burden of hypertension: analysis of worldwide data. *Lancet*. 2005;365:217-23.
- Kerr JF, Wyllie AH, Currie AR. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. *Br J Cancer*. 1972;26:239-57.

- Kerr S, Brosnan MJ, McIntyre M, Reid JL, Dominiczak AF, Hamilton CA. Superoxide anion production is increased in a model of genetic hypertension: role of the endothelium. *Hypertension*. 1999;33:1353-8.
- Kinloch RA, Treherne JM, Furness LM, Hajimohamadreza I. The pharmacology of apoptosis. *Trends Pharmacol Sci*. 1999;20:35-42.
- Kischkel FC, Hellbardt S, Behrmann I, Germer M, Pawlita M, Krammer PH, Peter ME. Cytotoxicity-dependent APO-1 (Fas/CD95)-associated proteins form a death-inducing signaling complex (DISC) with the receptor. *EMBO J*. 1995;14:5579-88.
- Kischkel FC, Lawrence DA, Chuntharapai A, Schow P, Kim KJ, Ashkenazi A. Apo2L/TRAIL-dependent recruitment of endogenous FADD and caspase-8 to death receptors 4 and 5. *Immunity*. 2000;12:611-20.
- Kishimoto T. IL-6: from its discovery to clinical applications. *Int Immunol*. 2010;22:347-52.
- Kjaer A, Appel J, Hildebrandt P, Petersen CL. Basal and exercise-induced neuroendocrine activation in patients with heart failure and in normal subjects. *Eur J Heart Fail*. 2004;6:29-39.
- Klag MJ, Whelton PK, Randall BL, Neaton JD, Brancati FL, Ford CE, Shulman NB, Stamler J. Blood pressure and end-stage renal disease in men. *N Engl J Med*. 1996;334:13-8.
- Klein AL, Burstow DJ, Tajik AJ, Zachariah PK, Bailey KR, Seward JB. Effects of age on left ventricular dimensions and filling dynamics in 117 normal persons. *Mayo Clin Proc*. 1994;69:212-24.
- Klemm P, Warner TD, Hohlfeld T, Corder R, Vane JR. Endothelin 1 mediates ex vivo coronary vasoconstriction caused by exogenous and endogenous cytokines. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1995;92:2691-5.
- Knowles JW, Esposito G, Mao L, Hagaman JR, Fox JE, Smithies O, Rockman HA, Maeda N. Pressure-independent enhancement of cardiac hypertrophy in natriuretic peptide receptor A-deficient mice. *J Clin Invest*. 2001;107:975-84.

- Kohno M, Horio T, Yokokawa K, Murakawa K, Yasunari K, Akioka K, Tahara A, Toda I, Takeuchi K, Kurihara N. Brain natriuretic peptide as a cardiac hormone in essential hypertension. *Am J Med.* 1992;92:29-34.
- Koller KJ, Goeddel DV. Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation.* 1992;86:1081-8.
- Kone BC. Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 2001;51:429-41.
- Kone BC. Molecular biology of natriuretic peptides and nitric oxide synthases. *Cardiovasc Res.* 2001;51:429-41.
- Kopf M, Baumann H, Freer G, Freudenberg M, Lamers M, Kishimoto T, Zinkernagel R, Bluethmann H, Köhler G. Impaired immune and acute-phase responses in interleukin-6-deficient mice. *Nature.* 1994;368:339-42.
- Koren MJ, Devereux RB, Casale PN, Savage DD, Laragh JH. Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann Intern Med.* 1991;114:345-52.
- Krippner-Heidenreich A, Tübing F, Bryde S, Willi S, Zimmermann G, Scheurich P. Control of receptor-induced signaling complex formation by the kinetics of ligand/receptor interaction. *J Biol Chem.* 2002;277:44155-63.
- Kroemer G, Zamzami N, Susin SA. Mitochondrial control of apoptosis. *Immunol Today.* 1997;18:44-51.
- Krumholz HM, Larson M, Levy D. Prognosis of left ventricular geometric patterns in the Framingham Heart Study. *J Am Coll Cardiol.* 1995;25:879-84.
- Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, Takeya M, Takeshita A, Egashira K, Imaizumi T. Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation? *Hypertension.* 2004;43:739-45.
- Lainchbury JG, Campbell E, Frampton CM, Yandle TG, Nicholls MG, Richards AM. Brain natriuretic peptide and n-terminal brain natriuretic peptide in the diagnosis of heart failure in patients with acute shortness of breath. *J Am Coll Cardiol.* 2003;42:728-35.

- Lang CC, Choy AM, Turner K, Tobin R, Coutie W, Struthers AD. The effect of intravenous saline loading on plasma levels of brain natriuretic peptide in man. *J Hypertens*. 1993;11:737-41.
- Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ; Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005;18:1440-63.
- Langub MC Jr, Dolgas CM, Watson RE Jr, Herman JP. The C-type natriuretic peptide receptor is the predominant natriuretic peptide receptor mRNA expressed in rat hypothalamus. *J Neuroendocrinol*. 1995;7:305-9.
- Laviades C, Varo N, Fernández J, Mayor G, Gil MJ, Monreal I, Díez J. Abnormalities of the extracellular degradation of collagen type I in essential hypertension. *Circulation*. 1998;98:535-40.
- Lavie CJ, Milani RV, Ventura HO, Messerli FH. Left ventricular geometry and mortality in patients > 70 years of age with normal ejection fraction. *Am J Cardiol*. 2006; 98:1396-9.
- Legler DF, Micheau O, Doucey MA, Tschopp J, Bron C. Recruitment of TNF receptor 1 to lipid rafts is essential for TNFalpha-mediated NF-kappaB activation. *Immunity*. 2003;18:655-64.
- Leibowitz D, Planer D, Ben-Ivgy F, Weiss AT, Bursztyn M. Tumor necrosis factor and interleukin-6 levels in hypertensive patients with and without left ventricular hypertrophy. *Blood Press*. 2005;14:21-4.
- Lerman LO, Nath KA, Rodriguez-Porcel M, Krier JD, Schwartz RS, Napoli C, Romero JC. Increased oxidative stress in experimental renovascular hypertension. *Hypertension*. 2001;37:541-6.

- Leskinen H, Vuolteenaho O, Ruskoaho H. Combined inhibition of endothelin and angiotensin II receptors blocks volume load-induced cardiac hormone release. *Circ Res.* 1997;80:114-23.
- Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999;130:461-70.
- Levin ER, Frank HJ. Natriuretic peptides inhibit rat astroglial proliferation: mediation by C receptor. *Am J Physiol.* 1991;261:R453-7.
- Levin ER, Gardner DG, Samson W. Natriuretic peptides. *N Engl J Med.* 1998;339:321-28.
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Left ventricular mass and incidence of coronary heart disease in an elderly cohort: The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med.* 1989;110:101-107.
- Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med.* 1990;322:1561-6.
- Levy D, Larson MG, Vasan RS, Kannel WB, Ho KK. The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA.* 1996;275:1557-62.
- Levy D, Salomon M, D'Agostino RB, Belanger AJ, Kannel WB. Prognostic implications of baseline electrocardiographic features and their serial changes in subjects with left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 1994;90:1786-93.
- Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet.* 2002;360:1903-13.
- Li C, Jackson RM. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2002 ;282:C227-41.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature.* 2002;420:868-74.

- Light DB, Schwiebert EM, Karlson KH, Stanton BA. Atrial natriuretic peptide inhibits a cation channel in renal inner medullary collecting duct cells. *Science*. 1989;243:383-5.
- Lim JY, Park SJ, Hwang HY, Park EJ, Nam JH, Kim J, Park SI. TGF-beta1 induces cardiac hypertrophic responses via PKC-dependent ATF-2 activation. *J Mol Cell Cardiol*. 2005;39:627-36.
- Liu Y, Liu T, McCarron RM, Spatz M, Feuerstein G, Hallenbeck JM, Sirén AL. Evidence for activation of endothelium and monocytes in hypertensive rats. *Am J Physiol*. 1996;270:H2125-31.
- Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*. 2001;104:487-501.
- Loetscher H, Pan YC, Lahm HW, Gentz R, Brockhaus M, Tabuchi H, Lesslauer W. Molecular cloning and expression of the human 55 kd tumor necrosis factor receptor. *Cell*. 1990 20;61:351-9.
- Longstreth WT Jr, Manolio TA, Arnold A, Burke GL, Bryan N, Jungreis CA, Enright PL, O'Leary D, Fried L. Clinical correlates of white matter findings on cranial magnetic resonance imaging of 3301 elderly people. The Cardiovascular Health Study. *Stroke*. 1996;27:1274-82.
- López B, Castellano JM, González A, Barba J, Díez J. Association of increased plasma cardiotrophin-1 with inappropriate left ventricular mass in essential hypertension. *Hypertension*. 2007;50:977-83.
- López B, González A, Díez J. Circulating biomarkers of collagen metabolism in cardiac disease. *Circulation*. 2010;121:1645-1654.
- Lum H, Roebuck KA. Oxidant stress and endothelial cell dysfunction. *Am J Physiol Cell Physiol*. 2001;280:C719-41.
- Ma KK, Ogawa T, de Bold AJ. Selective upregulation of cardiac brain natriuretic peptide at the transcriptional and translational levels by pro-inflammatory cytokines and by conditioned medium derived from mixed lymphocyte reactions via p38 MAP kinase. *J Mol Cell Cardiol*. 2004;36:505-13.

- Mackay F, Browning JL, Lawton P, Shah SA, Comiskey M, Bhan AK, Mizoguchi E, Terhorst C, Simpson SJ. Both the lymphotoxin and tumor necrosis factor pathways are involved in experimental murine models of colitis. *Gastroenterology*. 1998;115:1464-75.
- MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, Abbott R, Godwin J, Dyer A, Stamler J. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet*. 1990;335:765-74.
- MacMahon S, Rodgers A. The effects of blood pressure reduction in older patients: an overview of five randomized controlled trials in elderly hypertensives. *Clin Exp Hypertens*. 1993;15:967-978.
- Maekawa K, Sudoh T, Furusawa M, Minamino N, Kangawa K, Ohkubo H, Nakanishi S, Matsuo H. Cloning and sequence analysis of cDNA encoding a precursor for porcine brain natriuretic peptide. *Biochem Biophys Res Commun*. 1988;157:410-6.
- Mair J, Friedl W, Thomas S, Puschendorf B. Natriuretic peptides in assessment of left-ventricular dysfunction. *Scand J Clin Lab Invest*. 1999;59:132-42.
- Manabe S, Okura T, Watanabe S, Fukuoka T, Higaki J. Effects of angiotensin II receptor blockade with valsartan on pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005;46:735-9.
- Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, Cifkova R, Fagard R, Germano G, Grassi G, Heagerty AM, Kjeldsen SE, Laurent S, Narkiewicz K, Ruilope L, Rynkiewicz A, Schmieder RE, Boudier HA, Zanchetti A, Vahanian A, Camm J, De Caterina R, Dean V, Dickstein K, Filippatos G, Funck-Brentano C, Hellems I, Kristensen SD, McGregor K, Sechtem U, Silber S, Tendera M, Widimsky P, Zamorano JL, Erdine S, Kiowski W, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Lindholm LH, Viigimaa M, Adamopoulos S, Agabiti-Rosei E, Ambrosioni E, Bertomeu V, Clement D, Erdine S, Farsang C, Gaita D, Lip G, Mallion JM, Manolis AJ, Nilsson PM, O'Brien E, Ponikowski P, Redon J, Ruschitzka F, Tamargo J, van Zwieten P, Waeber B, Williams B; Management of Arterial

- Hypertension of the European Society of Hypertension; European Society of Cardiology. 2007 Guidelines for the Management of Arterial Hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). *J Hypertens.* 2007;25:1105-87.
- Mancia G, Facchetti R, Bombelli M, Polo Friz H, Grassi G, Giannattasio C, Sega R. Relationship of office, home, and ambulatory blood pressure to blood glucose and lipid variables in the PAMELA population. *Hypertension.* 2005;45:1072-7.
- Mancia G, Parati G, Borghi C, Ghironzi G, Andriani E, Marinelli L, Valentini M, Tessari F, Ambrosioni E; SMOOTH investigators. Hypertension prevalence, awareness, control and association with metabolic abnormalities in the San Marino population: the SMOOTH study. *J Hypertens.* 2006;24:837-43.
- Mandinova A, Soldi R, Graziani I, Bagala C, Bellum S, Landriscina M, Tarantini F, Prudovsky I, Maciag T. S100A13 mediates the copper-dependent stress-induced release of IL-1alpha from both human U937 and murine NIH 3T3 cells. *J Cell Sci.* 2003;116:2687-96.
- Mann DL. Mechanisms and models in heart failure: A combinatorial approach. *Circulation.* 1999;100:999-1008.
- Mann DL. Stress-activated cytokines and the heart: from adaptation to maladaptation. *Annu Rev Physiol.* 2003;65:81-101.
- Mann DL. Tumor necrosis factor-induced signal transduction and left ventricular remodeling. *J Card Fail.* 2002;8:S379-86.
- Marin-Grez M, Fleming JT, Steinhausen M. Atrial natriuretic peptide causes pre-glomerular vasodilatation and post-glomerular vasoconstriction in rat kidney. *Nature.* 1986;324:473-6.
- Marsden VS, Strasser A. Control of apoptosis in the immune system: Bcl-2, BH3-only proteins and more. *Annu Rev Immunol.* 2003;21:71-105.
- Martinez-Rumayor A, Richards AM, Burnett JC, Januzzi JL Jr. Biology of the natriuretic peptide. *Am J Cardiol.* 2008;101:3A-8A.

- Martiniuk AL, Lee CM, Lawes CM, Ueshima H, Suh I, Lam TH, Gu D, Feigin V, Jamrozik K, Ohkubo T, Woodward M; Asia-Pacific Cohort Studies Collaboration. Hypertension: its prevalence and population-attributable fraction for mortality from cardiovascular disease in the Asia-Pacific region. *J Hypertens*. 2007;25:73-9.
- Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, Donnelly SC, McDonald K. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation*. 2007;115:888-895.
- Masiá R, Pena A, Marrugat J, Sala J, Vila J, Pavesi M, Covas M, Aubó C, Elosua R. High prevalence of cardiovascular risk factors in Gerona, Spain, a province with low myocardial infarction incidence. REGICOR Investigators. *J Epidemiol Community Health*. 1998;52:707-15.
- Matsumori A, Yamada T, Suzuki H, Matoba Y, Sasayama S. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J*. 1994;72:561-6.
- Mayosi BM, Keavney B, Kardos A, Davies CH, Ratcliffe PJ, Farrall M, Watkins H. Electrocardiographic measures of left ventricular hypertrophy show greater heritability than echocardiographic left ventricular mass. *Eur Heart J*. 2002;23:1963-1971.
- McCord JM. The superoxide free radical: its biochemistry and pathophysiology. *Surgery*. 1983;94:412-4.
- McCullough PA, Duc P, Omland T, McCord J, Nowak RM, Hollander JE, Herrmann HC, Steg PG, Westheim A, Knudsen CW, Storrow AB, Abraham WT, Lamba S, Wu AH, Perez A, Clopton P, Krishnaswamy P, Kazanegra R, Maisel AS, from Breathing Not Properly Multinational Study Investigators. B-type natriuretic peptide and renal function in the diagnosis of heart failure: an analysis from the Breathing Not Properly Multinational Study. *Am J Kidney Dis*. 2003;41:571-9.
- McDonagh TA, Robb SD, Murdoch DR, Morton JJ, Ford I, Morrison CE, Tunstall-Pedoe H, McMurray JJ, Dargie HJ. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *Lancet*. 1998;351:9-13.

- 
- Mee JB, Johnson CM, Morar N, Burslem F, Groves RW. The psoriatic transcriptome closely resembles that induced by interleukin-1 in cultured keratinocytes: dominance of innate immune responses in psoriasis. *Am J Pathol.* 2007;171:32-42.
- Mehra MR, Uber PA, Park MH, Scott RL, Ventura HO, Harris BC, Frohlich ED. Obesity and suppressed B-type natriuretic peptide levels in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:1590-5.
- Meldrum DR, Dinarello CA, Cleveland JC Jr, Cain BS, Shames BD, Meng X, Harken AH. Hydrogen peroxide induces tumor necrosis factor alpha-mediated cardiac injury by a P38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *Surgery.* 1998;124:291-6.
- Melzi d'Eril GV, Tagnochetti T, Nauti A, Klersy C, Papalia A, Vadacca G, Moratti R, Merlini G. Biological variation of n-terminal pro-brain natriuretic peptide in healthy individuals. *Clin Chem.* 2003;49:1554-55.
- Mendall MA, Patel P, Asante M, Ballam L, Morris J, Strachan DP, Camm AJ, Northfield TC. Relation of serum cytokine concentrations to cardiovascular risk factors and coronary heart disease. *Heart.* 1997;78:273-277.
- Messerli FH, Williams B, Ritz E. Essential hypertension. *Lancet.* 2007;370:591-603.
- Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell.* 2003;114:181-90.
- Michielsen EC, Bakker JA, Kimmenade RR, Pinto YM, Dieijen-Visser MP. The diagnostic value of serum and urinary NT-proBNP for heart failure. *Ann Clin Biochem.* 2008;45:389-94.
- Michowitz Y, Goldstein E, Roth A, Afek A, Abashidze A, Ben Gal Y, Keren G, George J. The involvement of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol.* 2005;45:1018-24.

- Miller JF, Mitchell GF. Cell to cell interaction in the immune response. I. Hemolysin-forming cells in neonatally thymectomized mice reconstituted with thymus or thoracic duct lymphocytes. *J Exp Med.* 1968;128:801-20.
- Mo JY, Maki H, Sekiguchi M. Hydrolytic elimination of a mutagenic nucleotide, 8-oxodGTP, by human 18-kilodalton protein: sanitization of nucleotide pool. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1992;89:11021-5.
- Morillas P, Castillo J, Quiles J, Nuñez D, Guillén S, Maceira A, Rivera M, Bertomeu V. Usefulness of NT-proBNP level for diagnosing left ventricular hypertrophy in hypertensive patients. A cardiac magnetic resonance study. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61:972-5.
- Moser M, Hebert PR. Prevention of disease progression, left ventricular hypertrophy and congestive heart failure in hypertension treatment trials. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:1.214-1.218.
- Mouly-Bertin C, Bissery A, Milon H, Dzudie A, Rabilloud M, Bricca G, Vincent M, Lantelme P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide--a promising biomarker for the diagnosis of left ventricular hypertrophy in hypertensive women. *Arch Cardiovasc Dis.* 2008;101:307-15.
- Mueller T, Gegenhuber A, Dieplinger B, Poelz W, Haltmayer M. Capability of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP as indicators of cardiac structural disease in asymptomatic patients with systemic arterial hypertension. *Clin Chem.* 2005;51:2245-51.
- Mukoyama M, Nakao K, Hosoda K, Suga S, Saito Y, Ogawa Y, Shirakami G, Jougasaki M, Obata K, Yasure H, Kambayashi Y, Inouye K, Imura H. Brain natriuretic peptide as novel cardiac hormone in humans. Evidence for an exquisite dual natriuretic peptide system, atrial natriuretic peptide and brain natriuretic peptide. *J Clin Invest.* 1991;87:1402-12.
- Müller-Brunotte R, Kahan T, López B, Edner M, González A, Díez J, Malmqvist K. Myocardial fibrosis and diastolic dysfunction in patients with hypertension: results from the Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation versus Atenolol (SILVHIA). *J Hypertens.* 2007;25:1958-66.

- Mundle SD, Raza A. Defining the dynamics of self-assembled Fas-receptor activation. *Trends Immunol.* 2002;23:187-94
- Murdoch CE, Zhang M, Cave AC, Shah AM. NADPH oxidase-dependent redox signalling in cardiac hypertrophy, remodelling and failure. *Cardiovasc Res.* 2006;71:208-15.
- Myerson SG, Bellenger NG, Pennell DJ. Assessment of left ventricular mass by cardiovascular magnetic resonance. *Hypertension.* 2002;39:750-5.
- Nadar S, Blann AD, Lip GY. Endothelial dysfunction: methods of assessment and application to hypertension. *Curr Pharm Des.* 2004;10:3591-605.
- Naka T, Narazaki M, Hirata M, Matsumoto T, Minamoto S, Aono A, Nishimoto N, Kajita T, Taga T, Yoshizaki K, Akira S, Kishimoto T. Structure and function of a new STAT-induced STAT inhibitor. *Nature.* 1997;387:924-9.
- Nakabeppu Y, Tsuchimoto D, Ichinoe A, Ohno M, Ide Y, Hirano S, Yoshimura D, Tominaga Y, Furuichi M, Sakumi K. Biological significance of the defense mechanisms against oxidative damage in nucleic acids caused by reactive oxygen species: from mitochondria to nuclei. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1011:101-11.
- Nakamura K, Barzi F, Lam TH, Huxley R, Feigin VL, Ueshima H, Woo J, Gu D, Ohkubo T, Lawes CM, Suh I, Woodward M; Asia Pacific Cohort Studies Collaboration. Cigarette smoking, systolic blood pressure, and cardiovascular diseases in the Asia-Pacific region. *Stroke.* 2008;39:1694-702.
- Nakamura K, Fushimi K, Kouchi H, Mihara K, Miyazaki M, Ohe T, Namba M. Inhibitory effects of antioxidants on neonatal rat cardiac myocyte hypertrophy induced by tumor necrosis factor-alpha and angiotensin II. *Circulation.* 1998;98:794-9.
- Nakao K, Ogawa Y, Suga S, Imura H. Molecular biology and biochemistry of the natriuretic peptide system. II: Natriuretic peptide receptors. *J Hypertens.* 1992;10:1111-4.
- Nathan C. Points of control in inflammation. *Nature.* 2002;420:846-52.

- Ng LL, Geeranavar S, Jennings SC, Loke I, O'Brien RJ. Diagnosis of heart failure using urinary natriuretic peptides. *Clin Sci (Lond)*. 2004;106:129-33.
- Ng LL, Loke IW, Davies JE, Geeranavar S, Khunti K, Stone MA, Chin DT, Squire IB. Community screening for left ventricular systolic dysfunction using plasma and urinary natriuretic peptides. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:1043-50.
- Nian M, Lee P, Khaper N, Liu P. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res*. 2004;94:1543-53.
- Nicoll JA, Mrak RE, Graham DI, Stewart J, Wilcock G, MacGowan S, Esiri MM, Murray LS, Dewar D, Love S, Moss T, Griffin WS. Association of interleukin-1 gene polymorphisms with Alzheimer's disease. *Ann Neurol*. 2000;47:365-8.
- Nidorf SM, Picard MH, Triulzi MO, Thomas JD, Newell J, King ME, Weyman AE. New perspectives in the assessment of cardiac chamber dimensions during development and adulthood. *J Am Coll Cardiol*. 1992;19:983-8.
- Niethammer M, Sieber M, von Haehling S, Anker SD, Munzel T, Horstick G, Genth-Zotz S. Inflammatory pathways in patients with heart failure and preserved ejection fraction. *Int J Cardiol*. 2008;129:111-7.
- Nimmi ME. Fibrillar collagens; their biosynthesis, molecular structure, and mode of assembly. En: Zern MA, Reid LM, editores. Extracellular matrix. Nueva York: Marcel Dekker, 1993;121-148.
- Nishigaki K, Minatoguchi S, Seishima M, Asano K, Noda T, Yasuda N, Sano H, Kumada H, Takemura M, Noma A, Tanaka T, Watanabe S, Fujiwara H. Plasma Fas ligand, an inducer of apoptosis, in patients with chronic congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29:1214-20.
- Nishigaki K, Tomita M, Kagawa K, Noda T, Minatoguchi S, Oda H, Watanabe S, Morita N, Nakao K, Fujiwara H. Marked expression plasma brain natriuretic peptide is a special feature of hypertrophic obstructive cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 1996;28:1234-42.
- Nishikawa K, Yoshida M, Kusuhara M, Ishigami N, Isoda K, Miyazaki K, Ohsuzu F. Left ventricular hypertrophy in mice with a cardiac-specific

- overexpression of interleukin-1. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006;291:H176-83.
- O'Brien E, Sheridan J, O'Malley K. Dippers and non-dippers. *Lancet*. 1988;2:397.
- Ohtsuka T, Hamada M, Hiasa G, Sasaki O, Suzuki M, Hara Y, Shigematsu Y, Hiwada K. Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2001;37:412-7.
- Okura T, Watanabe S, Jiang Y, Nakamura M, Takata Y, Yang ZH, Kohara K, Kitami Y, Hiwada K. Soluble Fas ligand and atherosclerosis in hypertensive patients. *J Hypertens*. 2002;20:895-8.
- Olsen MH, Wachtell K, Tuxen C, Fossum E, Bang LE, Hall C, Ibsen H, Rokkedal J, Devereux RB, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide predicts cardiovascular events in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy: a LIFE study. *J Hypertens*. 2004;22:1597-604.
- Olsen MH, Wachtell K, Tuxen C, Fossum E, Bang LE, Hall C, Ibsen H, Rokkedal J, Devereux RB, Hildebrandt PR. Opposite effects of losartan and atenolol on natriuretic peptides in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy: a LIFE substudy. *J Hypertens*. 2005;23:1083-90.
- ONTARGET Investigators, Yusuf S, Teo KK, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, Dagenais G, Sleight P, Anderson C. Telmisartan, ramipril, or both in patients at high risk for vascular events. *N Engl J Med*. 2008;358:1547-59.
- Oparil S, Zaman MA, Calhoun DA. Pathogenesis of hypertension. *Ann Intern Med*. 2003;139:761-76.
- Page E, McCallister LP. Quantitative electron microscopic description of heart muscle cells. Application to normal, hypertrophied and thyroxin-stimulated hearts. *Am J Cardiol*. 1973;31:172-81.

- Pai JK, Pischon T, Ma J, Manson JE, Hankinson SE, Joshipura K, Curhan GC, Rifai N, Cannuscio CC, Stampfer MJ, Rimm EB. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N Engl J Med*. 2004;351:2599-610.
- Pandey KN, Oliver PM, Maeda N, Smithies O. Hypertension associated with decreased testosterone levels in natriuretic peptide receptor-A gene-knockout and gene-duplicated mutant mouse models. *Endocrinology*. 1999;140:5112-9.
- Park JB, Touyz RM, Chen X, Schiffrin EL. Chronic treatment with a superoxide dismutase mimetic prevents vascular remodeling and progression of hypertension in salt-loaded stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Am J Hypertens*. 2002;15:78-84.
- Parving HH, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Hollenberg NK; AVOID Study Investigators. Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. *N Engl J Med*. 2008;358:2433-46.
- Pascual-Figal DA, Domingo M, Casas T, Gich I, Ordoñez-Llanos J, Martínez P, Cinca J, Valdés M, Januzzi JL, Bayes-Genis A. Usefulness of clinical and NT-proBNP monitoring for prognostic guidance in destabilized heart failure outpatients. *Eur Heart J*. 2008;29:1011-8.
- Patti G, D'Ambrosio A, Mega S, Giorgi G, Zardi EM, Zardi DM, Dicuonzo G, Dobrina A, Di Sciascio G. Early interleukin-1 receptor antagonist elevation in patients with acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43:35-8.
- Pearson AC, Gudipati CV, Labovitz AJ. Effects of aging on left ventricular structure and function. *Am Heart J*. 1991;121:871-5.
- Pedersen F, Raymond I, Kistorp C, Sandgaard N, Jacobsen P, Hildebrandt P. N-terminal pro-brain natriuretic peptide in arterial hypertension: a valuable prognostic marker of cardiovascular events. *J Card Fail*. 2005;11:S70-5.
- Peeters AC, Netea MG, Janssen MC, Kullberg BJ, Van der Meer JW, Thien T. Pro-inflammatory cytokines in patients with essential hypertension. *Eur J Clin Invest*. 2001;31:31-6.

- Pelouch V, Dixon IM, Sethi R, Dhalla NS. Alteration of collagenous protein profile in congestive heart failure secondary to myocardial infarction. *Mol Cell Biochem.* 1993;129:121-31.
- Pennica D, Shaw KJ, Swanson TA, Moore MW, Shelton DL, Zioncheck KA, Rosenthal A, Taga T, Paoni NF, Wood WI. Cardiotrophin-1. Biological activities and binding to the leukemia inhibitory factor receptor/gp130 signaling complex. *J Biol Chem.* 1995;270:10915-22.
- Peschon JJ, Slack JL, Reddy P, Stocking KL, Sunnarborg SW, Lee DC, Russell WE, Castner BJ, Johnson RS, Fitzner JN, Boyce RW, Nelson N, Kozlosky CJ, Wolfson MF, Rauch CT, Cerretti DP, Paxton RJ, March CJ, Black RA. An essential role for ectodomain shedding in mammalian development. *Science.* 1998;282:1281-4.
- Prins ND, Van Dijk EJ, Den Heijer T, Vermeer SE, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Breteler MM. Cerebral white matter lesions and the risk of dementia. *Arch Neurol.* 2004;61:1531-4.
- Psaty BM, Smith NL, Siscovick DS. Health outcomes associated with antihypertensive therapies used as first-line agents: a systematic review and meta-analysis. *JAMA.* 1997; 277:739-745.
- Quiñones MA, Otto CM, Stoddard M, Waggoner A, Zoghbi WA; Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography. Recommendations for quantification of Doppler echocardiography: a report from the Doppler Quantification Task Force of the Nomenclature and Standards Committee of the American Society of Echocardiography *J Am Soc Echocardiogr.* 2002;15:167-84.
- Radaelli A, Loardi C, Cazzaniga M, Balestri G, Decarlino C, Cerrito MG, Cusa EN, Guerra L, Garducci S, Santo D, Menicanti L, Paolini G, Azzellino A, Lavitrano ML, Mancina G, Ferrari AU. Inflammatory activation during coronary artery surgery and its dose-dependent modulation by statin/ACE-inhibitor combination. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007;27:2750-5.

- Rademaker MT, Charles CJ, Kosoglau T, Protter AA, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Clearance receptors and endopeptidase: equal role in natriuretic peptide metabolism in heart failure. *Am J Physiol.* 1997;273:H2372-H2379.
- Rahman MM, Laher I. Structural and functional alteration of blood vessels caused by cigarette smoking: an overview of molecular mechanisms. *Curr Vasc Pharmacol.* 2007;5:276-92.
- Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, Tarpey M, Freeman BA, Griendling KK, Harrison DG. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations of vasomotor tone. *J Clin Invest.* 1996;97:1916-23.
- Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, Davos C, Kemp M, Liebenthal C, Niebauer J, Hooper J, Volk HD, Coats AJ, Anker SD. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation.* 2000;102:3060-7.
- Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes.* 1988;37:1595-607.
- Redfield MM, Rodeheffer RJ, Jacobsen SJ, Mahoney DW, Bailey KR, Burnett JC Jr. Plasma brain natriuretic peptide concentration: impact of age and gender. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:976-82.
- Redón J, Oliva MR, Tormos C, Giner V, Chaves J, Iradi A, Sáez GT. Antioxidant activities and oxidative stress byproducts in human hypertension. *Hypertension.* 2003;41:1096-101.
- Reichek N, Devereux RB. Left ventricular hypertrophy: relationship of anatomic, echocardiographic and electrocardiographic findings. *Circulation.* 1981;63:1391-8. OS.
- Richards AM, Lainchbury JG, Nicholls MG, Cameron AV, Yandle TG. Dendroaspis natriuretic peptide: endogenous or dubious? *Lancet.* 2002;359:5-6.

- Rickham PP. Human experimentation. Code of ethics of the world medical association. Declaration of Helsinki. *Br Med J*. 1964;2:177.
- Riddervold F, Smiseth OA, Hall C, Groves G, Risoe C. Rate-induced increase in plasma atrial natriuretic factor can occur independently of changes in atrial wall stretch. *Am J Physiol*. 1991;260:H1953-58.
- Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-9.
- Ridker PM, Rifai N, Pfeffer M, Sacks F, Lepage S, Braunwald E. Elevation of tumor necrosis factor- $\alpha$  and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation*. 2000;101:2149-53.
- Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ, Hennekens CH. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation*. 2000;101:1767-72.
- Rivera M, Cortés R, Salvador A, Bertomeu V, de Burgos FG, Payá R, Portolés M, Taléns-Visconti R, Martínez-Dolz L, Valero R, Sevilla B, Climent V. Obese subjects with heart failure have lower N-terminal pro-brain natriuretic peptide plasma levels irrespective of aetiology. *Eur J Heart Fail*. 2005;7:1168-70.
- Rivera M, Taléns-Visconti R, Salvador A, Bertomeu V, Miró V, García de Burgos F, Climent V, Cortés R, Payá R, Pérez-Boscá JL, Mainar L, Jordán A, Sogorb F, Cosín J, Mora V, Diago JL, Marín F. NT-proBNP levels and hypertension. Their importance in the diagnosis of heart failure. *Rev Esp Cardiol*. 2004;57:396-402.
- Rocchini AP, Key J, Bondie D, Chico R, Moorehead C, Katch V, Martin M. The effect of weight loss on the sensitivity of blood pressure to sodium in obese adolescents. *N Engl J Med*. 1989;321:580-5.
- Rodrigo R, Prat H, Passalacqua W, Araya J, Guichard C, Bächler JP. Relationship between oxidative stress and essential hypertension. *Hypertens Res*. 2007;30:1159-67.

- Rodríguez E, García AM, Foyo E, Amato D, Paniagua R. Role of thyroid hormones on the synthesis and release of atrial natriuretic peptide in rats with acute renal failure. *Nephron Exp Nephrol.* 2003;95:24-9.
- Rodríguez Perón JM, Menéndez López JR, Trujillo López, Yoel. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Rev Cub Med.* 2001;30:15-20.
- Rodríguez-Iturbe B, Zhan CD, Quiroz Y, Sindhu RK, Vaziri ND. Antioxidant-rich diet relieves hypertension and reduces renal immune infiltration in spontaneously hypertensive rats. *Hypertension.* 2003;41:341-6.
- Romano M, Sironi M, Toniatti C, Polentarutti N, Fruscella P, Ghezzi P, Faggioni R, Luini W, van Hinsbergh V, Sozzani S, Bussolino F, Poli V, Ciliberto G, Mantovani A. Role of IL-6 and its soluble receptor in induction of chemokines and leukocyte recruitment. *Immunity.* 1997;6:315-25.
- Roselló-Lletí E, Rivera M, Miró V, Mora V, Cortés R, Lauwers C, Valero R, Sevilla B, Sogorb F, Morillas P, García de Burgos F, Portolés M. Urinary NT-proBNP level: relationship with ventricular function parameters in heart failure. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:510-6.
- Rosendorff C, Black HR, Cannon CP, Gersh BJ, Gore J, Izzo JL Jr, Kaplan NM, O'Connor CM, O'Gara PT, Oparil S. American Heart Association Council for High Blood Pressure Research; American Heart Association Council on Clinical Cardiology; American Heart Association Council on Epidemiology and Prevention. Treatment of hypertension in the prevention and management of ischemic heart disease: a scientific statement from the American Heart Association Council for High Blood Pressure Research and the Councils on Clinical Cardiology and Epidemiology and Prevention. *Circulation.* 2007;115:2761-2788.
- Rosenquist TA, Zharkov DO, Grollman AP. Cloning and characterization of a mammalian 8-oxoguanine DNA glycosylase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1997;94:7429-34.
- Ruilope LM, Salvetti A, Jamerson K, Hansson L, Warnold I, Wedel H, Zanchetti A. Renal function and intensive lowering of blood pressure in

- hypertensive participants of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) study. *J Am Soc Nephrol.* 2001;12:218-25.
- Rumantir MS, Jennings GL, Lambert GW, Kaye DM, Seals DR, Esler MD. The 'adrenaline hypothesis' of hypertension revisited: evidence for adrenaline release from the heart of patients with essential hypertension. *J Hypertens.* 2000;18:717-23.
- Rutten JH, Mattace-Raso FU, Steyerberg EW, Lindemans J, Hofman A, Wieberdink RG, Breteler MM, Wittteman JC, van den Meiracker AH. Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide improves cardiovascular and cerebrovascular risk prediction in the population: the Rotterdam study. *Hypertension.* 2010;55:785-91.
- Sabri A, Hughie HH, Lucchesi PA. Regulation of hypertrophic and apoptotic signaling pathways by reactive oxygen species in cardiac myocytes. *Antioxid Redox Signal.* 2003;5:731-40.
- Sáez GT, Tormos C, Giner V, Chaves J, Lozano JV, Iradi A, Redón J. Factors related to the impact of antihypertensive treatment in antioxidant activities and oxidative stress by-products in human hypertension. *Am J Hypertens.* 2004;17:809-16.
- Sakano N, Wang DH, Takahashi N, Wang B, Sauriasari R, Kanbara S, Sato Y, Takigawa T, Takaki J, Ogino K. Oxidative stress biomarkers and lifestyles in Japanese healthy people. *J Clin Biochem Nutr.* 2009;44:185-95.
- Sakata Y, Yamamoto K, Masuyama T, Mano T, Nishikawa N, Kuzuya T, Miwa T, Hori M. Ventricular production of natriuretic peptides and ventricular structural remodeling in hypertensive heart failure. *J Hypertens.* 2001;19:905-9.
- Sastry PS, Rao KS. Apoptosis and the nervous system. *J Neurochem.* 2000;74:1-20.
- Savill J, Fadok V. Corpse clearance defines the meaning of cell death. *Nature.* 2000;407:784-8.
- Sawada Y, Suda M, Yokoyama H, Kanda T, Sakamaki T, Tanaka S, Nagai R, Abe S, Takeuchi T. Stretch-induced hypertrophic growth of cardiocytes

- and processing of brain-type natriuretic peptide are controlled by proprotein-processing endoproteases furin. *J Biol Chem.* 1997;272:20545-54.
- Schillaci G, Verdecchia P, Porcellati C, Cuccurullo O, Cosco C, Perticone F. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. *Hypertension.* 2000;35:580-6.
- Schiller NB, Shah PM, Crawford M, DeMaria A, Devereux R, Feigenbaum H, Gutgesell H, Reichek N, Sahn D, Schnittger I, Silverman NH, Tajik AJ. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms. *J Am Soc Echocardiogr.* 1989;2:358-67.
- Schnackenberg CG, Wilcox CS. Two-week administration of tempol attenuates both hypertension and renal excretion of 8-Iso prostaglandin f2alpha. *Hypertension.* 1999;33:424-8.
- Schou M, Dalsgaard MK, Clemmesen O, Dawson EA, Yoshiga CC, Nielsen HB, Gustafsson F, Hildebrandt PR, Secher NH. Kidneys extract BNP and NT-proBNP in healthy young men. *J Appl Physiol.* 2005;99:1676-80.
- Schou M, Gustafsson F, Kjaer A, Hildebrandt PR. Long-term clinical variation of NT-proBNP in stable chronic heart failure patients. *Eur Heart J.* 2007;28:177-82.
- Schultz HD, Gardner DG, Deschepper CF, Coleridge HM, Coleridge JC. Vagal C-fiber blockade abolishes sympathetic inhibition by atrial natriuretic factor. *Am J Physiol.* 1988;155:R6-13.
- Sciacqua A, Scozzafava A, Pujia A, Maio R, Borrello F, Andreozzi F, Vatrano M, Cassano S, Perticone M, Sesti G, Perticone F. Interaction between vascular dysfunction and cardiac mass increases the risk of cardiovascular outcomes in essential hypertension. *Eur Heart J.* 2005;26:921-7.
- Sciarretta S, Ferrucci A, Ciavarella GM, De Paolis P, Venturelli V, Tocci G, De Biase L, Rubattu S, Volpe M. Markers of inflammation and fibrosis are

- related to cardiovascular damage in hypertensive patients with metabolic syndrome. *Am J Hypertens.* 2007;20:784-91.
- Segura Fragoso A, Rius Mery G. Cardiovascular risk factors in a rural population of Castilla-La Mancha. *Rev Esp Cardiol.* 1999;52:577-88.
- Segura J, Ruilope LM, Zanchetti A. On the importance of estimating renal function for cardiovascular risk assessment. *J Hypertens.* 2004;22:1635-9.
- Sesso HD, Buring JE, Rifai N, Blake GJ, Gaziano JM, Ridker PM. C-reactive protein and the risk of developing hypertension. *JAMA.* 2003;290:2945-51.
- Shekelle PG, Rich MW, Morton SC, Atkinson CS, Tu W, Maglione M, Rhodes S, Barrett M, Fonarow GC, Greenberg B, Heidenreich PA, Knabel T, Konstam MA, Steimle A, Warner Stevenson L. Efficacy of angiotensin-converting enzyme inhibitors and beta-blockers in the management of left ventricular systolic dysfunction according to race, gender, and diabetic status: a meta-analysis of major clinical trials. *J Am Coll Cardiol.* 2003;41:1529-38.
- Sheu WHH, Lee WJ, Chang RL, Chen YT. Plasma tumor necrosis factor alpha levels and insulin sensitivity in hypertensive subjects. *Clin Exp Hypertens.* 2000;22:595-606.
- Sierra A, Coca A. Evaluación clínica y diagnóstico diferencial del paciente hipertenso. En: Coca A, Sierra A, editores. Decisiones clínicas y terapéuticas en el paciente hipertenso. Barcelona 1998;59-80.
- Sievers B, Kirchberg S, Franken U, Puthenveetil BJ, Bakan A, Trappe HJ. Visual estimation versus quantitative assessment of left ventricular ejection fraction: a comparison by cardiovascular magnetic resonance imaging. *Am Heart J.* 2005;150:737-42.
- Silvennoinen O, Witthuhn BA, Quelle FW, Cleveland JL, Yi T, Ihle JN. Structure of the murine Jak2 protein-tyrosine kinase and its role in interleukin 3 signal transduction. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1993;90:8429-33.

- Sleight P, Redon J, Verdecchia P, Mancia G, Gao P, Fagard R, Schumacher H, Weber M, Böhm M, Williams B, Pogue J, Koon T, Yusuf S; ONTARGET investigators. Prognostic value of blood pressure in patients with high vascular risk in the Ongoing Telmisartan Alone and in combination with Ramipril Global Endpoint Trial study. *J Hypertens.* 2009;27:1360-9.
- Smith MW, Espiner EA, Yandle TG, Charles CJ, Richards AM. Delayed metabolism of human brain natriuretic peptide reflects resistance to neutral endopeptidase. *J Endocrinol.* 2000;167:239-46.
- Solomon SD, Appelbaum E, Manning WJ, Verma A, Berglund T, Lukashevich V, Cherif Papst C, Smith BA, Dahlöf B; Aliskiren in Left Ventricular Hypertrophy (ALLAY) Trial Investigators. Effect of the direct Renin inhibitor aliskiren, the Angiotensin receptor blocker losartan, or both on left ventricular mass in patients with hypertension and left ventricular hypertrophy. *Circulation.* 2009;119:530-7.
- Sprang SR, Eck MJ. The 3-D structure of TNF. Tumor necrosis factors. En: B. Beutler, editor. New York 1992;11-32.
- Staessen JA, Thijs L, Fagard R, O'Brien ET, Clement D, de Leeuw PW, Mancia G, Nachev C, Palatini P, Parati G, Tuomilehto J, Webster J. Predicting cardiovascular risk using conventional vs ambulatory blood pressure in older patients with systolic hypertension. Systolic Hypertension in Europe Trial Investigators. *JAMA.* 1999;282:539-46.
- Stamler J, Vaccaro O, Neaton JD, Wentworth D. Diabetes, other risk-factors, and 12-yr cardiovascular mortality for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. *Diabetes Care.* 1993;16:434-44.
- Starr R, Willson TA, Viney EM, Murray LJ, Rayner JR, Jenkins BJ, Gonda TJ, Alexander WS, Metcalf D, Nicola NA, Hilton DJ. A family of cytokine-inducible inhibitors of signalling. *Nature.* 1997;387:917-21.
- Stockand JD, Sansom SC. Regulation of filtration rate by glomerular mesangial cells in health and diabetic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1997;29:971-81.
- Sudoh T, Kangawa K, Minamino N, Matsuo H. A new natriuretic peptide in porcine brain. *Nature.* 1988;332:78-81.

- Sudoh T, Minamino N, Kangawa K, Matsuo H. C-type natriuretic peptide (CNP): a new member of the natriuretic peptide family identified in porcine brain. *Biochem Biophys Res Comm.* 1990;168:863-70.
- Sung SH, Chuang SY, Sheu WH, Lee WJ, Chou P, Chen CH. Relation of adiponectin and high-sensitivity C-reactive protein to pulse-wave velocity and N-terminal pro-B-type natriuretic peptide in the general population. *Am J Cardiol.* 2009;103:1411-6.
- Suzuki M, Hamada M, Yamamoto K, Kazatani Y, Hiwada K. Brain natriuretic peptide as a risk marker for incident hypertensive cardiovascular events. *Hypertens Res.* 2002;25:669-76.
- Swedberg K, Cleland J, Dargie H, Drexler H, Follath F, Komajda M, Tavazzi L, Smiseth OA, Gavazzi A, Haverich A, Hoes A, Jaarsma T, Korewicki J, Levy S, Linde C, Lopez-Sendon JL, Nieminem MS, Pierard L, Remme WJ. Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2005;26:1115-40.
- Taddei S, Salvetti A. Endothelial dysfunction in essential hypertension: clinical implications. *J Hypertens.* 2002;20:1671-4.
- Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Magagna A, Salvetti A. Vitamin C improves endothelium-dependent vasodilation by restoring nitric oxide activity in essential hypertension. *Circulation.* 1998;97:2222-9.
- Taga T, Hibi M, Hirata Y, Yamasaki K, Yasukawa K, Matsuda T, Hirano T, Kishimoto T. Interleukin-6 triggers the association of its receptor with a possible signal transducer, gp130. *Cell.* 1989;58:573-81.
- Takatsuji H, Mikami T, Urasawa K, Teranishi J, Onozuka H, Takagi C, Makita Y, Matsuo H, Kusuoka H, Kitabatake A. A new approach for evaluation of left ventricular diastolic function: spatial and temporal analysis of left ventricular filling flow propagation by color M-mode Doppler echocardiography. *J Am Coll Cardiol.* 1996;27:365-71.

- Takeichi N, Suzuki K, Okayasu T, Kobayashi H. Immunological depression in spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Immunol.* 1980;40:120-6.
- Tamura N, Ogawa Y, Chusho H, Nakamura K, Nakao K, Suda M, Kasahara M, Hashimoto R, Katsura G, Mukoyama M, Itoh H, Saito Y, Tanaka I, Otani H, Katsuki M. Cardiac fibrosis in mice lacking brain natriuretic peptide. *Proc Natl Acad Sci.* 2000;97:4239-44.
- Tanito M, Nakamura H, Kwon YW, Teratani A, Masutani H, Shioji K, Kishimoto C, Ohira A, Horie R, Yodoi J. Enhanced oxidative stress and impaired thioredoxin expression in spontaneously hypertensive rats. *Antioxid Redox Signal.* 2004;6:89-97.
- Tatasciore A, Renda G, Zimarino M, Soccio M, Bilo G, Parati G, Schillaci G, De Caterina R. Awake systolic blood pressure variability correlates with target-organ damage in hypertensive subjects. *Hypertension.* 2007;50:325-32.
- Teiger E, Than VD, Richard L, Wisnewsky C, Tea BS, Gaboury L, Tremblay J, Schwartz K, Hamet P. Apoptosis in pressure overload-induced heart hypertrophy in the rat. *J Clin Invest.* 1996;97:2891-2897.
- Telmisartan Randomised Assessment Study in ACE intolerant subjects with cardiovascular Disease (TRANSCEND) Investigators, Yusuf S, Teo K, Anderson C, Pogue J, Dyal L, Copland I, Schumacher H, Dagenais G, Sleight P. Effects of the angiotensin-receptor blocker telmisartan on cardiovascular events in high-risk patients intolerant to angiotensin-converting enzyme inhibitors: a randomised controlled trial. *Lancet.* 2008;372:1174-83.
- Thomas F, Rudnichi A, Bacri AM, Bean K, Guize L, Benetos A. Cardiovascular mortality in hypertensive men according to presence of associated risk factors. *Hypertension.* 2001;37:1256-61.
- Thomas JD, Chandra S, Karson TH, Pu M, Vandervoort PM. Digital compression of echocardiograms: impact on quantitative interpretation of color Doppler velocity. *J Am Soc Echocardiogr.* 1996;9:606-15.
- Thompson CB. Apoptosis in the pathogenesis and treatment of disease. *Science.* 1995;267:1456-62.

- Thornberry NA, Lazebnik Y. Caspases: enemies within. *Science*. 1998;281:1312-6.
- Toda K, Sato Y, Hara T, Hijiya K, Kaneko R, Okada T, Takatsu Y, Fujiwara H, Iwasaki T. Correlates of NT-proBNP concentration in patients with essential hypertension in absence of congestive heart failure. *J Clin Lab Anal*. 2010;24:12-6.
- Tomás-Abadal L, Varas-Lorenzo C, Bernades-Bernat E, Balaguer-Vintró I. Coronary risk factors and a 20-year incidence of coronary heart disease and mortality in a Mediterranean industrial population. The Manresa Study, Spain. *Eur Heart J*. 1994;15:1028-36.
- Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation*. 1996;93:704-11.
- Touyz RM, Schiffrin EL. Increased generation of superoxide by angiotensin II in smooth muscle cells from resistance arteries of hypertensive patients: role of phospholipase D-dependent NAD(P)H oxidase-sensitive pathways. *J Hypertens*. 2001;19:1245-54.
- Troughton RW, Frampton CM, Yandle TG, Espiner EA, Nicholls MG, Richards AM. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet*. 2000;355:1126-30.
- Tschöpe C, Kasner M, Westermann D, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. The role of NT-proBNP in the diagnostics of isolated diastolic dysfunction: correlation with echocardiographic and invasive measurements. *Eur Heart J*. 2005;26:2277-84.
- Tschöpe C, Kasner M, Westermann D, Walther T, Gaub R, Poller WC, Schultheiss HP. Elevated NT-ProBNP levels in patients with increased left ventricular filling pressure during exercise despite preserved systolic function. *J Card Fail*. 2005;11:S28-33.
- Tse WY, Maxwell SR, Thomason H, Blann A, Thorpe GH, Waite M, Holder R. Antioxidant status in controlled and uncontrolled hypertension and its relationship to endothelial damage. *J Hum Hypertens*. 1994;8:843-9.

- Tsuruda T, Boerrigter G, Huntley BK, Noser JA, Cataliotti A, Costello-Boerriger LC, Chen HH, Burnett JC Jr. Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res.* 2002;91:1127-34.
- Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Hisanaga T, Fukai D, Maeda Y, Ohnishi M, Mabuchi N, Kinoshita M. Digitalis increases brain natriuretic peptide in patients with severe congestive heart failure. *Am Heart J.* 1997;134:910-6.
- Tsutamoto T, Wada A, Maeda K, Mabuchi N, Hayashi M, Tsutsui T, Ohnishi M, Sawaki M, Fujii M, Matsumoto T, Matsui T, Kinoshita M. Effect of spironolactone on plasma brain natriuretic peptide and left ventricular remodeling in patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:1228-33.
- Um JY, Jeong HJ, Park RK, Hong SH, Kim HM. Aspects of gene polymorphisms in cerebral infarction: inflammatory cytokines. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62:824-33.
- Usui M, Egashira K, Tomita H, Koyanagi M, Katoh M, Shimokawa H, Takeya M, Yoshimura T, Matsushima K, Takeshita A. Important role of local angiotensin II activity mediated via type 1 receptor in the pathogenesis of cardiovascular inflammatory changes induced by chronic blockade of nitric oxide synthesis in rats. *Circulation.* 2000;101:305-10.
- Valgimigli M, Ceconi C, Malagutti P, Merli E, Soukhomovskaia O, Francolini G, Cicchitelli G, Olivares A, Parrinello G, Percoco G, Guardigli G, Mele D, Pirani R, Ferrari R. Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study. *Circulation.* 2005;111:863-70.
- Vallés E, Guindo J. Hipertensión arterial. En: Josep Guindo Soldevila. Apuntes de cardiología. Barcelona, 2004;121-144.
- Vander Heiden MG, Chandel NS, Williamson EK, Schumacker PT, Thompson CB. Bcl-xL regulates the membrane potential and volume homeostasis of mitochondria. *Cell.* 1997;91:627-37.

- Vara-González L, Muñoz Cacho P, Sanz de Castro S. Arterial hypertension prevalence, detection, treatment and control in Cantabria, Spain, 2002. *Rev Esp Salud Publica*. 2007;81:211-9.
- Varo N, Etayo JC, Zalba G, Beaumont J, Iraburu MJ, Montiel C, Gil MJ, Monreal I, Díez J. Losartan inhibits the post-transcriptional synthesis of collagen type I and reverses left ventricular fibrosis in spontaneously hypertensive rats. *J Hypertens*. 1999;17:107-14.
- Vasan RS, Benjamin EJ, Larson MG, Leip EP, Wang TJ, Wilson PW, Levy D. Plasma natriuretic peptides for community screening for left ventricular hypertrophy and systolic dysfunction: the Framingham heart study. *JAMA*. 2002;288:1252-9.
- Verdecchia P, Carini G, Circo A, Dovellini E, Giovannini E, Lombardo M, Solinas P, Gorini M, Maggioni AP. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. *J Am Coll Cardiol*. 2001;38:1829-1835.
- Verdecchia P, Schillaci G, Borgioni C, Ciucci A, Gattobigio R, Zampi I, Porcellati C. Prognostic value of a new electrocardiographic method for diagnosis of left ventricular hypertrophy in essential hypertension. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:383-90.
- Verdecchia P, Schillaci G, Guerrieri M, Boldrini F, Gatteschi C, Benemio G, Porcellati C. Prevalence and determinants of left ventricular diastolic filling abnormalities in an unselected hypertensive population. *Eur Heart J*. 1990;11:679-91.
- Vermeer SE, Hollander M, Van Dijk EJ, Hofman A, Koudstaal PJ, Breteler MM, Rotterdam Scan Study. Silent brain infarcts and white matter lesions increase stroke risk in the general population: the Rotterdam Scan Study. *Stroke*. 2000;34:1126-9.
- Vermeer SE, Koudstaal PJ, Oudkerk M, Hofman A, Breteler MM. Prevalence and risk factors of silent brain infarcts in the population-based Rotterdam Scan Study. *Stroke*. 2002;33:21-5.
- Vesely DL. Natriuretic peptides and acute renal failure. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2003;285:F167-77.

- Vicenová B, Vopálenský V, Burýsek L, Pospíšek M. Emerging role of interleukin-1 in cardiovascular diseases. *Physiol Res.* 2009;58:481-98.
- Viridis A, Neves MF, Amiri F, Touyz RM, Schiffrin EL. Role of NAD(P)H oxidase on vascular alterations in angiotensin II-infused mice. *J Hypertens.* 2004;22:535-42.
- Viridis A, Schiffrin EL. Vascular inflammation: a role in vascular disease in hypertension? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2003;12:181-7.
- Volpato S, Guralnik JM, Ferrucci L, Balfour J, Chaves P, Fried LP, Harris TB. Cardiovascular disease, interleukin-6, and risk of mortality in older women: the women's health and aging study. *Circulation.* 2001;103:947-53.
- Wahl HG, Graf S, Renz H, Fassbinder W. Elimination of the cardiac natriuretic peptides B-type natriuretic peptide (BNP) and N-terminal proBNP by hemodialysis. *Clin Chem.* 2004;50:1071-4.
- Walther T, Klostermann K, Hering-Walther S, Schultheiss HP, Tschöpe C, Stepan H. Fibrosis rather than blood pressure determines cardiac BNP expression in mice. *Regul Pept.* 2003;116:95-100.
- Wang CY, Mayo MW, Korneluk RG, Goeddel DV, Baldwin AS Jr. NF-kappaB antiapoptosis: induction of TRAF1 and TRAF2 and c-IAP1 and c-IAP2 to suppress caspase-8 activation. *Science.* 1998;281:1680-3.
- Wang TJ, Larson MG, Benjamin EJ, Siwik DA, Safa R, Guo CY, Corey D, Sundstrom J, Sawyer DB, Colucci WS, Vasan RS. Clinical and echocardiographic correlates of plasma procollagen type III amino-terminal peptide levels in the community. *Am Heart J.* 2007;154:291-297.
- Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Leip EP, Wilson PW, Vasan RS. Impact of obesity on plasma natriuretic peptide levels. *Circulation.* 2004;109:594-600.
- Wang TJ, Larson MG, Levy D, Leip EP, Benjamin EJ, Wilson PW, Sutherland P, Omland T, Vasan RS. Impact of age and sex on plasma natriuretic peptide levels in healthy adults. *Am J Cardiol.* 2002;90:254-8.

- 
- Wang ZB, Liu YQ, Cui YF. Pathways to caspase activation. *Cell Biol Int.* 2005;29:489-96.
- Ward NC, Croft KD. Hypertension and oxidative stress. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006;33:872-6.
- Ward NC, Hodgson JM, Puddey IB, Mori TA, Beilin LJ, Croft KD. Oxidative stress in human hypertension: association with antihypertensive treatment, gender, nutrition, and lifestyle. *Free Radic Biol Med.* 2004;36:226-32.
- Wegenka UM, Buschmann J, Lütticken C, Heinrich PC, Horn F. Acute-phase response factor, a nuclear factor binding to acute-phase response elements, is rapidly activated by interleukin-6 at the posttranslational level. *Mol Cell Biol.* 1993;13:276-88.
- Wei M, Mitchell BD, Haffner SM, Stern MP. Effects of cigarette smoking, diabetes, high cholesterol, and hypertension on all-cause mortality and cardiovascular disease mortality in Mexican Americans. The San Antonio Heart Study. *Am J Epidemiol.* 1996;144:1058-65.
- Weiss SJ. Tissue destruction by neutrophils. *N Engl J Med.* 1989;320:365-76.
- Weitzman D, Goldbourt U. The significance of various blood pressure indices for long-term stroke, coronary heart disease, and all-cause mortality in men: The Israeli Ischemic Heart Disease Study. *Stroke.* 2006;37:358-363.
- Wellen KE, Hotamisligil GS. Obesity-induced inflammatory changes in adipose tissue. *J Clin Invest.* 2003;112:1785-1788.
- Wijeyaratne CN, Moulton PJA. The effect of  $\alpha$  human atrial natriuretic peptide on plasma volume and vascular permeability in normotensive subjects. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993;76:343-6.
- Willenheimer R, Cline C, Erhardt L, Israelsson B. Left ventricular atrioventricular plane displacement: an echocardiographic technique for rapid assessment of prognosis in heart failure. *Heart.* 1997;78:230-6.
- Willenheimer R. Assessment of left ventricular dysfunction and remodeling by determination of atrioventricular plane displacement and simplified echocardiography. *Scand Cardiovasc J Suppl.* 1998;48:1-31.

- Wolf-Maier K, Cooper RS, Banegas JR, Giampaoli S, Hense HW, Joffres M, Kastarinen M, Poulter N, Primatesta P, Rodríguez-Artalejo F, Stegmayr B, Thamm M, Tuomilehto J, Vanuzzo D, Vescio F. Hypertension prevalence and blood pressure levels in 6 European countries, Canada, and the United States. *JAMA*. 2003;289:2363-9.
- Wu AH, Packer M, Smith A, Bijou R, Fink D, Mair J, Wallentin L, Johnston N, Feldcamp CS, Haverstick DM, Ahnadi CE, Grant A, Despres N, Blustein B, Ghani F. Analytical and clinical evaluation of the Bayer ADVIA Centaur automated B-type natriuretic peptide assay in patients with heart failure: a multisite study. *Clin Chem*. 2004;50:867-73.
- Wu LL, Chiou CC, Chang PY, Wu JT. Urinary 8-OHdG: a marker of oxidative stress to DNA and a risk factor for cancer, atherosclerosis and diabetics. *Clin Chim Acta*. 2004;339:1-9.
- Wu R, Millette E, Wu L, de Champlain J. Enhanced superoxide anion formation in vascular tissues from spontaneously hypertensive and desoxycorticosterone acetate-salt hypertensive rats. *J Hypertens*. 2001;19:741-8.
- Yamamoto K, Burnett JC Jr, Jougasaki M, Nishimura RA, Bailey KR, Saito Y, Nakao K, Redfield MM. Superiority of brain natriuretic peptide as a hormonal marker of ventricular systolic and diastolic dysfunction and ventricular hypertrophy. *Hypertension*. 1996;28:988-94.
- Yamamoto K, Masuyama T, Sakata Y, Nishikawa N, Mano T, Yoshida J, Miwa T, Sugawara M, Yamaguchi Y, Ookawara T, Suzuki K, Hori M. Myocardial stiffness is determined by ventricular fibrosis, but not by compensatory or excessive hypertrophy in hypertensive heart. *Cardiovasc Res*. 2002;55:76-82.
- Yamamoto S, Sawada K, Shimomura H, Kawamura K, James TN. On the nature of cell death during remodelling of hypertrophied human myocardium. *J Moll Cell Cardiol*. 2000;32:161-175.
- Yang RH, Jin HK, Wyss JM, Chen YF, Oparil S. Pressor effect of blocking atrial natriuretic peptide in nucleus tractus solitarii. *Hypertension*. 1992;19:198-205.

- Yano T, Shoji F, Baba H, Koga T, Shiraishi T, Orita H, Kohno H. Significance of the urinary 8-OHdG level as an oxidative stress marker in lung cancer patients. *Lung Cancer*. 2009;63:111-4.
- Yasunari K, Maeda K, Nakamura M, Yoshikawa J. Oxidative stress in leukocytes is a possible link between blood pressure, blood glucose, and C-reacting protein. *Hypertension*. 2002;39:777-80.
- Yokota S, Miyamae T, Imagawa T, Iwata N, Katakura S, Mori M, Woo P, Nishimoto N, Yoshizaki K, Kishimoto T. Therapeutic efficacy of humanized recombinant anti-interleukin-6 receptor antibody in children with systemic-onset juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2005;52:818-25.
- Yokoyama T, Nakano M, Bednarczyk JL, McIntyre BW, Entman M, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation*. 1997;95:1247-52.
- Yoshizaki K, Matsuda T, Nishimoto N, Kuritani T, Taeho L, Aozasa K, Nakahata T, Kawai H, Tagoh H, Komori T. Pathogenic significance of interleukin-6 (IL-6/BSF-2) in Castleman's disease. *Blood*. 1989;74:1360-7.
- Yoshizaki K, Nishimoto N, Mihara M, Kishimoto T. Therapy of rheumatoid arthritis by blocking IL-6 signal transduction with a humanized anti-IL-6 receptor antibody. *Springer Semin Immunopathol*. 1998;20:247-59.
- Yoshizawa A, Yoshikawa T, Nakamura I, Satoh T, Moritani K, Suzuki M, Baba A, Twanaga S, Mitamura H, Ogawa S. Brain natriuretic peptide response is heterogeneous during beta-blocker therapy for congestive heart failure. *J Card Fail*. 2004;10:310-5.
- Zanchetti A, Hansson L, Dahlof B, Elmfeldt D, Kjeldsen S, Kolloch R, Laroche P, McInnes GT, Mallion JM, Ruilope L, Wedel H. Effects of individual risk factors on the incidence of cardiovascular events in the treated hypertensive patients of the Hypertension Optimal Treatment Study. HOT Study Group. *J Hypertens*. 2001;19:1149-59.
- Zannad F, Dousset B, Alla F. Treatment of congestive heart failure: interfering the aldosterone-cardiac extracellular matrix relationship. *Hypertension*. 2001;38:1227-32.

- 
- Zannad F, Rossignol P, Iraqi W. Extracellular matrix fibrotic markers in heart failure. *Heart Fail Rev.* 2010;15:319-29.
- Zeidel ML, Kikeri D, Silva P, Burrows M, Brenner BM. Atrial natriuretic peptides inhibit conductive sodium uptake by rabbit inner medullary collecting duct cells. *J Clin Invest.* 1988;82:1067-74.
- Zeidel ML. Regulation of collecting duct Na<sup>+</sup> reabsorption by ANP 31-67. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1995;22:121-4.
- Zen K, Irie H, Doue T, Takamiya M, Yamano T, Sawada T, Azuma A, Matsubara H. Analysis of circulating apoptosis mediators and proinflammatory cytokines in patients with idiopathic hypertrophic cardiomyopathy: comparison between nonobstructive and dilated-phase hypertrophic cardiomyopathy. *Int Heart J.* 2005;46:231-44.
- Zhang C, Chen H, Xie HH, Shu H, Yuan WJ, Su DF. Inflammation is involved in the organ damage induced by sinoaortic denervation in rats. *J Hypertens.* 2003;21:2141-8.
- Zhang WZ, Venardos K, Chin-Dusting J, Kaye DM. Adverse effects of cigarette smoke on NO bioavailability: role of arginine metabolism and oxidative stress. *Hypertension.* 2006;48:278-85.
- Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994;372:425-32.
- Zhong Z, Wen Z, Darnell JE Jr. Stat3: a STAT family member activated by tyrosine phosphorylation in response to epidermal growth factor and interleukin-6. *Science.* 1994;264:95-8.
- Zimmermann KC, Bonzon C, Green DR. The machinery of programmed cell death. *Pharmacol Ther.* 2001;92:57-70.