



UNIVERSIDAD DE CANTABRIA
FACULTAD DE MEDICINA

TESIS DOCTORAL

FUNCIÓN ENDOTELIAL EN
DEPORTISTAS DE ALTA COMPETICIÓN

DOCTORANDO

José Bernardo Gutiérrez Sánchez

DIRECTORES

M^a Teresa García-Unzueta
José Ramón de Berrazueta Fernández

Santander, 2006

Por ti, María.

AGRADECIMIENTOS

A la colaboración de todos los deportistas y no deportistas que participaron en este trabajo.

A la Doctora María Teresa García Unzueta y al Profesor José Ramón de Berrazueta,
por su amistad, sus consejos, su paciencia y su confianza en mí.

Toda mi gratitud por su amistad y apoyo a:
Inma, a todos en la Escuela Universitaria de Enfermería y en radiodiagnóstico del Hospital
Universitario “Marques de Valdecilla”.

A todos en radiodiagnóstico del Hospital Universitario “José E. González” en Monterrey.

Por todo el apoyo y por la beca predoctoral a la fundación “Marques de Valdecilla”.

A mi madre Matilde y a la memoria de mi padre José (lin), me otorgaron la más valiosa de
las herencias, una buena educación.

A mis hermanos, Maty y Juan Carlos.

A mi cuñado Luis Humberto, a mis sobrinos: Marian, Maty y Luis Pablo.

A la memoria de mis abuelos y de mis tios.

A Viges y Juanito, y a toda mi familia.

A todos los profesores que me han formado.

A mis amigos.

A ti, María,
por ser mi principal apoyo y motivación
para realizar este trabajo.

ÍNDICE

ÍNDICE	Página
ABREVIATURAS	10
1.INTRODUCCIÓN	12
1.1 EJERCICIO	13
1.1.1 Definición	13
1.1.2 Características del deporte	13
1.1.3 Intensidad	15
1.1.4 Ejercicio y riesgo cardiovascular	15
1.1.5 Distensibilidad arterial y ejercicio	16
1.2 ENDOTELIO VASCULAR	16
1.2.1 Aspectos generales	16
1.2.2 El endotelio como órgano	17
1.2.3 Funciones del endotelio	19
1.2.3.1 Función de barrera y transporte	19
1.2.3.2 Funciones de síntesis y funciones metabólicas	19
1.2.3.2.1 Síntesis de sustancias del tejido conectivo	19
1.2.3.2.2 Metabolismo lipídico	19
1.2.3.2.3 Regulación de mecanismos de la coagulación	20
1.2.3.2.4 Regulación de la fibrinólisis	20
1.2.3.2.5 Regulación de mecanismos de defensa inmunológica	20
1.2.3.2.5.1 Infiltración leucocitaria	21
1.2.3.2.5.2 Fases de la infiltración leucocitaria	21
1.2.3.2.5.3 Moléculas de adhesión	22
1.2.3.2.5.4 Procesos inflamatorios y células de adhesión	22
1.2.3.2.6 Síntesis de sustancias vasoactivas	23
1.2.3.2.7 Sustancias vasoconstrictoras derivadas del endotelio	23
1.2.3.2.8 Sustancias vasodilatadoras derivadas del endotelio	23
1.2.3.2.8.1 Oxido nítrico derivado del endotelio	24
1.2.3.2.8.1.1 Síntesis y metabolismo del oxido nítrico	24
1.2.3.2.8.1.2 Oxido nítrico y tono vascular	25
1.2.3.2.8.1.3 El oxido nítrico y la función plaquetaria	26

1.2.3.2.8.1.4	El oxido nítrico como neurotransmisor	26
1.2.3.2.8.1.5	Isoenzimas de la vía L-Arginina-Oxido nítrico	26
1.2.3.2.8.1.5.1	Sintasa constitutiva L-Arginiga:Oxido nítrico	26
1.2.3.2.8.1.5.2	Sintasa inducible L-Arginina:Oxido nítrico	27
1.2.3.2.8.1.5.3	Sintasa L-Arginina:Oxido nítrico inducible en el lecho vascular	27
1.2.3.2.8.1.6	Interacción endotelio – leucocito y Oxido nítrico	28
1.2.3.2.8.1.7	Músculo liso vascular y Oxido nítrico	28
1.2.3.2.8.1.8	Mecanismos del daño inducido por el Oxido nítrico	29
1.3	INTEGRIDAD ENDOTELIAL	30
1.3.1	Activación endotelial	30
1.3.2	Disfunción endotelial	31
1.3.2.1	Métodos de estudio de la función endotelial	32
1.3.2.1.1	Estudio de la vasodilatación endotelio-dependiente mediada por flujo	32
1.3.2.1.2	Pletismografía por oclusión venosa intermitente	33
1.3.2.1.3	Pletismografía venosa del dorso de la mano	34
1.3.2.1.4	Técnicas de hiperemia reactiva	34
1.3.2.2	Marcadores bioquímicos de disfunción endotelial	36
1.3.2.2.1	GMPc	36
1.3.2.2.1.1	GMPc y patología vascular	36
1.3.2.2.2	Selectina-E	37
1.3.2.2.2.1	Selectina-E y patología vascular	38
1.3.2.2.3	Enzima convertidora de angiotensina	38
1.3.2.2.3.1	ECA y patología vascular	39
1.3.2.2.4	Factor Von Willebrand	39
1.3.2.2.4.1	Factor Von Willebrand y patología vascular	39
1.3.2.3	Marcadores de riesgo cardiovascular	40
1.3.2.3.1	Homocisteína	40
1.3.2.3.1.1	Homocisteína y patología vascular	41
1.3.2.3.2	Fibrinógeno	41
1.3.2.3.2.1	Fibrinógeno y patología vascular	42
1.3.2.3.3	Proteína C reactiva	43
1.3.2.3.3.1	Proteína c reactiva y patología vascular	43

1.3.2.3.4	Lipoproteína (a)	44
1.3.2.3.4.1	Lipoproteína (a) y patología vascular	44
1.4	EJERCICIO Y ENDOTELIO VASCULAR	45
1.4.1	Estudios pletismográficos relacionados con el ejercicio	45
1.4.2	Marcadores de disfunción endotelial y ejercicio	46
1.4.2.1	Oxido nítrico y ejercicio	46
1.4.2.2	Selectina-E y ejercicio	47
1.4.2.3	Enzima convertora de angiotensina y ejercicio	47
1.4.2.4	Factor Von Willebrand y ejercicio	48
1.4.3	Marcadores de riesgo cardiovascular y ejercicio	48
1.4.3.1	Homocisteína y ejercicio	48
1.4.3.2	Fibrinógeno y ejercicio	48
1.4.3.3	Proteína C reactiva y ejercicio	49
1.4.3.4	Lipoproteína (a) y ejercicio	49
2.	OBJETIVOS	50
2.1	OBJETIVO GENERAL	51
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	51
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	53
3.1	CRITERIOS DE SELECCIÓN	54
3.1.1	Criterios de inclusión	54
3.1.2	Criterios de exclusión	54
3.1.3	Salida del estudio	55
3.2	GRUPOS DE ESTUDIO	55
3.3	PARÁMETROS CLÍNICOS	56
3.3.1	Historia clínica	56
3.3.2	Exploración física	56
3.4	DETERMINACIONES ANALÍTICAS	56
3.4.1	Recogida de muestras, extracción y procesamiento	56
3.4.2	Determinaciones plasmáticas rutinarias	57
3.4.3	Descripción de las técnicas específicas	59
3.4.4	Conceptos generales	59
3.4.5	Determinación de parámetros de disfunción endotelial	60

3.4.5.1	Determinación plasmática de enzima convertora de angiotensina	60
3.4.5.2	Determinación de selectina E	61
3.4.5.3	Determinación del factor Von Willebrand	63
3.4.6	Determinación de parámetros de riesgo vascular	64
3.4.6.1	Determinación plasmática de homocisteína	64
3.4.6.2	Determinación plasmática de fibrinógeno	65
3.4.6.3	Proteína c reactiva	65
3.4.6.4	Lipoproteína (a)	65
3.4.7	Determinación de parámetros de metabolismo oxidativo	65
3.4.7.1	LDL oxidada	65
3.4.7.2	Estado antioxidante total	67
3.5	PROTOCOLO DE PLETISMOGRAFIA ARTERIAL	67
3.5.1	Estudio de la vasodilatación endotelio dependiente	67
3.5.2	Estudio de la vasodilatación endotelio independiente	69
3.6	ANALISIS ESTADÍSTICO	70
4.	RESULTADOS	71
4.1	DATOS FÍSICOS GENERALES	72
4.1.1	Ciclistas y grupo sedentario control	72
4.1.2	Exciclistas y grupo sedentario control	72
4.1.3	Exciclistas y ciclistas	73
4.1.4	Remeros y grupo sedentario control	74
4.1.5	Remeros y ciclistas	75
4.1.6	Grupos activos y grupo sedentario control	76
4.2	DATOS BIOQUÍMICOS RUTINARIOS	77
4.2.1	Ciclistas y grupo sedentario control	77
4.2.2	Exciclistas y grupo sedentario control	78
4.2.3	Exciclistas y ciclistas	79
4.2.4	Remeros y grupo sedentario control	79
4.2.5	Remeros y ciclistas	80
4.2.6	Grupos activos y grupo sedentario control	81
4.3	PARÁMETROS BIOQUÍMICOS ESPECÍFICOS	82
4.3.1	Ciclistas y grupo sedentario control	82

4.3.2	Exciclistas y grupo sedentario control	82
4.3.3	Exciclistas y ciclistas	84
4.3.4	Remeros y grupo sedentario control	85
4.3.5	Remeros y ciclistas	85
4.3.6	Grupos activos y grupo sedentario control	86
4.4	PARÁMETROS DE FLUJOS ARTERIALES	87
4.4.1	Ciclistas y grupo sedentario control	87
4.4.2	Exciclistas y grupo sedentario control	87
4.4.3	Exciclistas y ciclistas	88
4.4.4	Remeros y grupo sedentario control	89
4.4.5	Remeros y ciclistas	90
4.4.6	Grupos activos y grupo sedentario control	91
4.5	CORRELACIONES	93
4.6	REGRESIÓN LINEAL	93
4.6.1	Variable dependiente “incremento en brazo”	93
4.6.2	Variable dependiente “incremento en pierna”	94
5	DISCUSIÓN	95
6	CONCLUSIONES	105
7	BIBLIOGRAFÍA	107
8	ADDENDUM	126

Abreviaturas

Ac	Anticuerpo
Ach	Acetilcolina
ADMA	Asimétrica dimetil arginina
ADN	Ácido desoxirribonucleico
Ag	Antígeno
Ag*	Antígeno marcado radiactivamente
ALT	Alanina aminotransferasa
AMPc	Adenosin Monofosfato cíclico
BK	Bradikinina
Ca ²⁺	Calcio iónico
CE	Célula endotelial
ECC	Enfermedad cardiocoronaria
ECA	Enzima convertora de angiotensina
EDRF	Factor de relajación derivado del endotelio
EDTA	Sal dipotásica dihidratada
eNOS	Sintasa endotelial de NO
ESM	Error estandar de la media
ET-1	Endotelina-1
Fb	Fibrinógeno
FB	Flujo basal
FHR	Flujo en hiperemia reactiva
GMPc	Guanilato monofosfato cíclico
HDL	Lipoproteína de alta densidad
Hrs	Horas
IECAS	Inhibidores de enzima convertora de angiotensina
IL-1	Interleucina 1
IL-2	Interleucina 2
IMC	Índice de masa corporal

iNOS	Sintasa inducible del NO
L-arg	L-arginina
LDL	Lipoproteína de baja densidad
L-NMMA	L-nitro guanidin-monometil-arginina
lpm	Latidos por minuto
NO	Oxido nítrico
NO ₂ -	Nitritos
NO ₃ -	Nitratos
NTG	Nitroglicerina
NVD	Nitrovasodilatadores
PCR	Proteína C reactiva
PGI ₂	Prostaciclina
PMN	Leucocitos polimorfonucleares
RIA	Radioinmunoensayo
TA	Tensión arterial
TAS	Estado antioxidante total
TF	Factor tisular
t-PA	Activador tisular del plasminógeno
u-PA	Activador de la urokinasa
Sem	Semanas
S-E	Selectina E soluble
SPSS	Statistical Package for Social Sciences
vWf	Factor von Willebrand

1. INTRODUCCIÓN

1.1. EJERCICIO

1.1.1. Definición

Se define a la actividad física como cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que dan como resultado gasto de energía ⁽¹⁾. El ejercicio físico es una categoría de la actividad física, con movimientos corporales planeados, voluntarios, estructurados y repetitivos, realizados para mejorar o mantener una o más de las cualidades biomotoras, con el objetivo de producir un mejor funcionamiento del organismo, lo que implica la realización de estas actividades con una mayor o menor periodicidad y sin establecer competiciones. Aunque se pueden practicar en grupo, no es necesario ni imprescindible la presencia de otras personas para su realización ^(2 3). El acondicionamiento físico, es un conjunto de atributos que la gente tiene o logra y que se relaciona con la capacidad de realizar una actividad física determinada de forma eficiente ⁽⁴⁾. El deporte es la actividad específica de competición, en la que se valora intensamente la práctica del ejercicio físico con vista a la obtención por parte del individuo, del perfeccionamiento de las posibilidades funcionales y psíquicas, relacionándolas a un récord, a la superación de sí mismo o de su adversario, bajo un orden y/o reglas de juego ⁽⁵⁾.

1.1.2. Características del deporte

El deporte engloba dos tipos diferentes de actividad física:

Los entrenamientos para conseguir un mejor acondicionamiento físico y por otro lado la competición.

El deporte espectáculo, es aquel que se practica como profesión para la obtención de beneficios económicos, materiales y la búsqueda de fama. El deporte de esparcimiento o deporte como actividad en el tiempo libre, es el que hacen aquellos que buscan satisfacción personal y los beneficios que proporciona su práctica regular; aquí se incluyen tanto sanos como enfermos, a los que la práctica deportiva ayuda a prevenir y controlar algunas enfermedades ⁽³⁾.

Para realizar el ejercicio se requiere energía que se obtiene mediante los diferentes sistemas energéticos. El mecanismo de contracción y relajación del músculo es alimentado exclusivamente por el trifosfato de adenosina, la única forma de energía que la

célula puede utilizar directamente y tiene que ser continuamente resintetizada mediante procesos metabólicos aeróbicos y anaeróbicos. La resíntesis aeróbica se consigue mediante la oxidación de la glucosa sanguínea, derivada de las reservas de glucógeno muscular y del hígado, de los lípidos obtenidos a partir de los ácidos grasos libres circulantes, de las reservas de triglicéridos intramusculares y en menor medida de las proteínas. La resíntesis anaeróbica del trifosfato de adenosina se consigue mediante la degradación de la fosfocreatina a creatinina y de glucosa a lactato, teniendo una capacidad de resíntesis total relativamente pequeña pero con un ritmo potencial mayor en comparación con el metabolismo aeróbico (6).

La disponibilidad y utilización de los sustratos de energía durante el ejercicio son dependientes de la intensidad y la duración del mismo.

El ejercicio físico resulta en una variedad de respuestas fisiológicas, metabólicas y hormonales, que dependen del tipo, la intensidad y la duración del esfuerzo realizado, así como del nivel de acondicionamiento físico individual, edad, género y estado nutricional del individuo. La respuesta fisiológica y metabólica aguda a una sesión de ejercicio, es inmediata y temporal y se presenta prácticamente en todos los aparatos y sistemas del organismo. Las adaptaciones al ejercicio crónico (a largo plazo y de forma habitual) son más permanentes, dando como consecuencia un incremento en la capacidad funcional y el nivel de acondicionamiento, mejorando la habilidad del organismo para responder eficientemente al ejercicio agudo subsiguiente. La adecuada dosificación de la carga del entrenamiento y el tiempo de su realización producen diferentes grados de adaptación muscular y cardiovascular (7).

El ejercicio se clasifica en isotónico o dinámico e isométrico o estático; el primero se desarrolla contra una carga constante e implica la contracción rítmica de un grupo de músculos flexores y extensores; son de esta modalidad actividades como caminar, correr, ciclismo, nadar, etc. El segundo se desarrolla manteniendo una misma longitud muscular, un ejemplo es el sostenimiento de pesas (8).

Se observa un menor índice de masa corporal en sujetos que realizan ejercicio de predominio dinámico al compararlos con sujetos que realizan ejercicio de predominio isométrico y con sujetos sedentarios (9).

1.1.3. Intensidad

Es el grado de exigencia de la carga de entrenamiento. Es la variable más importante y también la más difícil de determinar, se puede expresar como un porcentaje de la capacidad aeróbica funcional y el consumo máximo de oxígeno, siendo este el mejor índice para medirla. Puede calcularse mediante la realización de una prueba de esfuerzo graduada o directamente con un equipo para medir intercambio de gases respiratorios.

La duración de una sesión de ejercicio necesaria para obtener y mejorar la condición aeróbica, varía en función inversa con la intensidad del ejercicio y puede modificarse dentro de ciertos límites, dependiendo de la capacidad funcional y del estado clínico general del individuo. La relación intensidad / duración debe vigilarse cuidadosamente, con modificaciones adecuadas, sin que la duración de la sesión produzca fatiga ^(10 11).

1.1.4. Ejercicio y riesgo cardiovascular

Practicar ejercicio de manera regular tiene múltiples beneficios para la salud y se relaciona con una menor probabilidad para padecer enfermedades cardiovasculares ⁽¹²⁾.

El ejercicio causa incremento en el flujo sanguíneo que a su vez incrementa la tensión de roce resultando una vasodilatación dependiente del endotelio.

El incremento crónico en la tensión de roce se relaciona con una mejor función endotelial, además de que se relaciona con una mayor actividad de la funcionalidad plaquetaria y una mayor fibrinólisis.

La tensión de roce puede afectar directamente a la morfología vascular, y se ha demostrado una correlación entre la actividad física y el aumento en el diámetro de la arteria coronaria ⁽¹²⁾. La tensión de roce actúa como estímulo sobre el endotelio para incrementar la capacidad de transporte de la L arginina (L-Arg) que es el precursor de la molécula de óxido nítrico (NO), también aumenta la actividad y expresión de la NO Sintasa, todo esto conlleva a un aumento en la producción endotelial de NO y a la consecuente vasodilatación. Los resultados de estudios en animales sugieren que el realizar ejercicio da como resultado un aumento en la producción de NO. En preparaciones de coronarias de perros que realizaron ejercicio se observó una vasodilatación significativamente mayor que en coronarias de su grupo control ⁽¹³⁾, y se observó una mayor inhibición de la vasodilatación en cerdos que fueron entrenados en comparación con su grupo control ⁽¹⁴⁾.

1.1.5. Distensibilidad arterial y ejercicio

La distensibilidad arterial es la capacidad de las arterias a expandirse y retraerse con cada pulsación durante el ciclo cardiaco ⁽¹⁵⁾. Los elementos de la pared arterial que determinan su distensibilidad, son su composición de elastina y de colágeno (determinantes estructurales) y el tono de vasoconstricción ejercido por las células musculares (determinante funcional).

Con el envejecimiento disminuye la distensibilidad arterial, aun más en las personas que son sedentarias ^(16 17). Esta reducción en la distensibilidad arterial se asocia a disfunción endotelial en patologías comunes de gente mayor como la hipertensión arterial ^(18 19).

En contraste, la vida sedentaria es identificada como un factor de riesgo para padecer enfermedades cardiovasculares existiendo una fuerte correlación entre ambas ^(20 21).

Por otro lado el ejercicio aumenta la capacidad funcional cardiovascular tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedad cardiovascular conocida ⁽²²⁾, y produce cambios cardiovasculares tanto en la función cardiaca como en el sistema vascular periférico ⁽²³⁾.

Los efectos positivos en la salud consecuentes a la practica habitual de ejercicio aeróbico se asocian a:

Una mejor distribución y porcentaje de la grasa corporal ⁽²⁴⁾.

Un mejor perfil lipoproteico ⁽²⁵⁾.

Una mejor tolerancia a la glucosa y una mayor sensibilidad de la insulina ^(26 27 28).

Una tensión arterial (TA) normal ^(29 30).

1.2. ENDOTELIO VASCULAR

1.2.1. Aspectos generales

La primera descripción de las estructuras de la pared vascular y por ende del endotelio se debe a Jacob Henle. La primera vez que se documenta el vocablo "endotelio" es, en francés, en el año 1869 y, en inglés en 1875 ⁽³¹⁾.

Lord Howard Walter Florey (1898-1968), Premio Nobel en 1945 por sus trabajos en colaboración con el Dr. Flemming, en una conferencia en 1966 refirió que el endotelio

funcionaba como una barrera y aseguró que “la permeabilidad endotelial será de gran importancia para aclarar la fase inicial del desarrollo de la arteriosclerosis”.

En 1974, George Palade, alcanza el Premio Nobel en recompensa a sus estudios sobre la organización interna de las estructuras intracelulares, entre ellas, las mitocondrias, cloroplastos, aparato de Golgi, ribosomas y los cuerpos de Weibel-Palade, que describió en las células endoteliales como orgánulos de depósito que contienen diversas proteínas, entre ellas el factor de Von Willebrand, y se refirió al endotelio como un órgano endocrino muy grande y muy activo, con una localización estratégica entre la sangre y el resto del organismo y que es el responsable de múltiples funciones fisiológicas vitales ⁽³²⁾.

Jaffe ^(33 34) consiguió en 1971 cultivar las primeras células endoteliales a partir de las células endoteliales de vena umbilical (Figura 1).

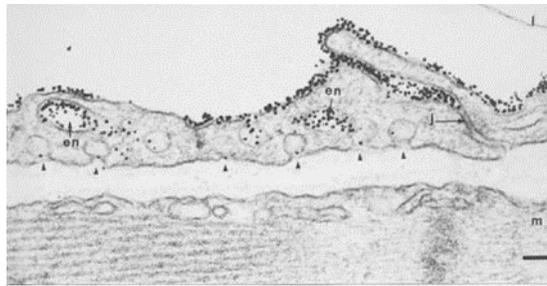


Figura 1. Endotelio visto al microscopio.

1.2.2. El endotelio como órgano

El endotelio es un tipo de epitelio plano simple, formado por células endoteliales, conformadas por núcleo paralelo, filamentos contráctiles, pocas mitocondrias, retículo endoplasmático liso y retículo endoplasmático rugoso, con numerosos orificios y vesículas pinocíticas y endocíticas, que recubre el interior de todos los vasos sanguíneos, incluido el corazón, donde se llama endocardio.

Es un tejido que ha dejado de considerarse una simple barrera que contiene al plasma y a las células de la sangre, que permite el intercambio de nutrientes y desechos entre el medio hemático y los tejidos.

El endotelio es un verdadero órgano dentro de otros órganos que pesa casi 3.5 kilogramos, en un adulto de 70 kilogramos (5% del peso corporal total), con una relación superficie / volumen muy alta. Si alineáramos todas las células endoteliales del organismo de un adulto, darían cuatro vueltas a la circunferencia de la tierra, y serían el equivalente a una superficie aproximadamente igual a media docena de canchas de tenis. Con importante capacidad metabólica, sus células consumen gran cantidad de energía. La exposición continua a los múltiples componentes de la sangre hacen del endotelio un órgano endocrino con múltiples funciones reguladoras ⁽³⁵⁾. Es un órgano porque cumple la definición aceptada para tal: parte natural o estructura en un animal o planta, capaz de realizar algunas acciones especiales (denominadas funciones), que son esenciales para la vida o el bienestar del organismo vivo ⁽³⁶⁾.

La superficie de las células endoteliales está recubierta de receptores, que permiten al endotelio realizar múltiples funciones. Por eso la disfunción endotelial es la responsable de numerosas enfermedades como la arteriosclerosis, la hipertensión arterial, la sepsis, la trombosis, la vasculitis, hemorragias, etc...

De la correcta interrelación entre la capa de célula endotelial (CE) y los distintos componentes sanguíneos dependen determinadas constantes o equilibrios homeostáticos.

La integridad de la capa de CE es fundamental para el normal funcionamiento de numerosas funciones orgánicas, entre otras, la síntesis de determinadas moléculas plasmáticas, el mantenimiento de una superficie no trombogénica y los intercambios entre sangre y tejidos a través de mecanismos como la unión a receptores específicos de membrana de algunas moléculas plasmáticas, la interiorización en la CE o endocitosis y su transporte selectivo o transcitosis. Algunos de los componentes de superficie de las CE están continuamente activos, mientras que otros precisan una estimulación previa ⁽³⁷⁾.

Las CE están adaptadas en los distintos lugares del organismo para realizar diferentes funciones. Existen diferencias entre las CE de los capilares pulmonares o cerebrales, entre las del sistema venoso y arterial. Presentan distintos receptores y sintetizan diferentes sustancias en mayor o menor cantidad lo que hace que en determinadas situaciones en las que se produce disfunción endotelial, como en la aterosclerosis, se vean afectadas un gran número de funciones.

El fenotipo de las células endoteliales varía en cada territorio y se adapta para cada tejido y varía también a lo largo del tiempo. En cada órgano establece un diálogo con el tejido subyacente. La interacción endotelio tejido juega un importante papel para mantener la salud del organismo, y también el estado local del endotelio en todas las enfermedades del organismo. El endotelio es estudiado por todas las disciplinas clínicas ya que prácticamente en todas las enfermedades de cualquier órgano o sistema se observa afectado el endotelio ⁽³⁶⁾.

1.2.3. Funciones del endotelio

1.2.3.1. Función de barrera y transporte

La primera función conocida de las CE fue la función de barrera y transporte. Permite regular el intercambio de materias como agua, pequeñas moléculas grasas, gases respiratorios y otras moléculas mayores hidro o lipofílicas derivadas de proteínas o lipoproteínas disminuyendo la velocidad de transporte con el aumento de tamaño de las moléculas ⁽³⁸⁾.

1.2.3.2. Funciones de síntesis y funciones metabólicas

1.2.3.2.1. Síntesis de sustancias del tejido conectivo

Entre las funciones de síntesis de las CE destacan las de distintos componentes del tejido conectivo, como fibronectina, trombospondina, elastina, microfibrillas, y enzimas como elastasa y colagenasa ⁽³⁷⁾.

1.2.3.2.2. Metabolismo lipídico

Las CE participan activamente en numerosas funciones metabólicas. Principalmente en el metabolismo lipídico. La lipoprotein lipasa se une en la superficie endotelial al heparin-glicosaminoglicano, que es esencial para el metabolismo de los triglicéridos circulantes ⁽³⁹⁾. Poseen enzimas de superficie como la histaminasa capaz de inactivar la histamina circulante y la superóxido dismutasa, que desarrolla un efecto que bloquea los radicales libres, evitando por tanto su daño. Otros receptores de la superficie de las CE se unen a todas las lipoproteínas circulantes, interviniendo así en el metabolismo del colesterol.

1.2.3.2.3. Regulación de mecanismos de la coagulación

La síntesis y metabolismo de factores de la coagulación son otras de las funciones bien conocidas hoy de las CE. Desempeñan un papel fundamental en el control de funciones coagulantes y de mecanismos anticoagulantes. En el endotelio se sintetizan los factores IXa, VIIa, una protrombinasa, que favorece el paso de protrombina a trombina. Bajo el estímulo de la trombina o endotoxina las CE generan “tissue factor” o factor tisular (TF) antes llamado tromboplastina y la interleucina 1 (IL-1).

Entre los mecanismos anticoagulantes presentes en la superficie de las CE destaca la síntesis de un heparan sulfato, cofactor de la antitrombina III, que inactiva y previene la formación de la trombina. También se sintetiza la trombomodulina que cataliza la activación de la proteína C, que posee acción anticoagulante. La trombomodulina bloquea también la activación de las plaquetas por la trombina. Dos sustancias más sintetizadas por las CE presentan una acción antiagregante plaquetaria: La prostaciclina (PGI_2) y el óxido nítrico ⁽⁴⁰⁾.

1.2.3.2.4. Regulación de la fibrinólisis

Otro mecanismo que protege de la trombosis intravascular es la fibrinólisis. Las CE producen el activador tisular del plasminógeno (t-PA) y el activador de la urokinasa (u-PA), que transforman el plasminógeno en plasmina, que es el verdadero enzima fibrinolítico ⁽⁴¹⁾. Sin embargo, también se ha descrito la síntesis de un rápido inhibidor de t-PA favorecedor de la trombosis por parte de las CE.

1.2.3.2.5. Regulación de mecanismos de defensa inmunológica

Las células endoteliales participan en todas las fases de la inflamación a través de la expresión de moléculas de adhesión que facilitan la adherencia y trans migración de los leucocitos y a través de la síntesis de mediadores de la vasodilatación como óxido nítrico y prostaciclina.

La primera respuesta en la inflamación aguda es la vasodilatación que se sigue del aumento de la permeabilidad vascular y la exudación de neutrófilos; aunque los

mediadores de la vasodilatación pueden surgir del plasma, los leucocitos o las plaquetas, el endotelio como órgano regulador del tono vascular contribuye en este proceso ⁽⁴²⁾.

Entre los mecanismos de defensa contra el huésped se produce una interacción entre las CE y los leucocitos polimorfonucleares (PMN) que es fundamental en la reacción inflamatoria. También con los monocitos presentan una alta afinidad a través de la activación del complemento ⁽⁴³⁾. Las CE participan también en la respuesta inmune, se ha comprobado que estimulan la producción de interleucina 2 (IL-2) por los linfocitos T ⁽⁴⁴⁾.

1.2.3.2.5.1. Infiltración leucocitaria

Uno de los mecanismos principales del proceso inflamatorio es la infiltración leucocitaria ya sea por una infección, reacción inmunológica, traumatismo o isquemia. Sin embargo si bien la infiltración leucocitaria es un proceso beneficioso en la infección y curación de heridas, puede tener sin embargo un papel desfavorable en los órganos reperfundidos tras un episodio de isquemia, o después del trasplante.

La interacción de los linfocitos con las células con capacidad antigénica ha conducido no sólo al estudio de los receptores antigénicos específicos, sino también a una serie de moléculas que regulan no solo la interacción célula - célula, sino también la migración celular. Estas moléculas son las denominadas moléculas de adhesión ⁽⁴⁵⁾.

1.2.3.2.5.2. Fases de la infiltración leucocitaria

En el área inflamatoria algunos leucocitos atraviesan la pared venosa postcapilar con el fin de atacar los organismos inductores del proceso inflamatorio. Los linfocitos dejan el torrente sanguíneo y entran en el sistema linfático. Las plaquetas también se adhieren a los lugares donde se produce daño endotelial. En este proceso de adhesión temporal juegan un papel fundamental la interacción entre moléculas específicas.

El proceso de migración leucocitaria se divide en cuatro estadios ^(46 47). En un primer momento los leucocitos se acercan a la pared vascular adhiriéndose de forma reversible al endotelio en un proceso denominado “rolling” o rodamiento de los leucocitos. La familia de las selectinas son las moléculas de adhesión más importantes en esta fase. En una segunda fase, llamada de activación, el contacto del leucocito con el endotelio aumenta, se produce la activación de ambas células en las cuales unas nuevas moléculas de adhesión, las integrinas,

producen una unión más intensa, que lleva a la tercera fase o de fuerte adhesión. Los leucocitos se desplazan de una forma ameboide hasta una unión entre dos células endoteliales que es próxima a la zona inflamada, produciéndose la cuarta fase que es llamada transmigración leucocitaria.

1.2.3.2.5.3. Moléculas de adhesión

Como se ha comentado más arriba, la interacción entre el leucocito y la pared vascular requiere la expresión de una serie de moléculas o receptores en ambas superficies celulares, endoteliales y leucocitos, denominadas moléculas de adhesión. Las moléculas de adhesión intervienen no solo en la adhesión de unas células a otras, sino también a componentes de la matriz extracelular ⁽⁴⁸⁾.

Se han clasificado fundamentalmente en seis tipos o clases: selectinas, integrinas, superfamilia de las inmunoglobulinas, cadherinas, proteoglicanos y mucinas, cada una de ellas se expresa en distintas células o en la misma en distintos momentos de un proceso de adhesión ⁽⁴⁹⁾.

1.2.3.2.5.4. Procesos inflamatorios y células de adhesión

En distintas enfermedades cardiovasculares, como la aterosclerosis y sus complicaciones, la trombosis coronaria, la reestenosis tras angioplastia, la lesión de reperfusión y la vasculopatía del rechazo del trasplante, las moléculas de adhesión juegan papeles de suma importancia ⁽⁵⁰⁾. Se pueden emplear como marcadores del grado de inflamación ⁽⁵¹⁾.

En la aterosclerosis la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales activadas produce un incremento en la unión con los leucocitos y monocitos.

El endotelio en ausencia de daño vascular mantiene en el subendotelio sustancias como a las glicoproteínas ligandos de adhesión como el factor de Von Willebrand, la fibronectina o el colágeno impidiendo que se pongan en contacto con las plaquetas circulantes, evitando su adhesión, agregación y activación ^(52 53).

1.2.3.2.6. Síntesis de sustancias vasoactivas

La función más importante del endotelio desde el punto de vista de la cardiología es probablemente la regulación del tono arterial. Las CE tienen una función doble, son capaces de sintetizar moléculas con efecto vasoconstrictor y otras que ejercen un poderoso efecto vasodilatador.

1.2.3.2.7. Sustancias vasoconstrictoras derivadas del endotelio

Entre las sustancias vasoconstrictoras, las CE sintetizan el enzima convertidor de la angiotensina que regula la transformación de la angiotensina I en el potente vasoconstrictor angiotensina II, siendo uno de los mecanismos a través del cual las CE están implicadas en la regulación del tono y tensión arterial ⁽⁵⁴⁾. El otro potente vasoconstrictor es un péptido de 21 aminoácidos sintetizado por las CE, la endotelina-1 (ET-1), que ejerce una potente acción vasoconstrictora y que es detectable en distintas situaciones patológicas ⁽⁵⁵⁾.

1.2.3.2.8. Sustancias vasodilatadoras derivadas del endotelio

Tanto la prostaciclina como el NO, sustancias con acción vasodilatadora que sintetizan las CE, fueron mostradas a la comunidad científica por el Dr. Salvador Moncada. Sus trabajos abrieron el conocimiento de la pared vascular, su relación con las enfermedades cardiovasculares y la importancia del endotelio en su relación con todo el organismo.

La prostaciclina ejerce su acción vasodilatadora a través de la estimulación del nucleótido adenosin monofosfato cíclico (AMPC) e interacciona con la prostaglandina plaquetaria, el tromboxano, que tiene una acción antagónica, vasoconstrictora y agregante plaquetaria ⁽⁵⁶⁾.

En 1980 Furchgott y Zawadzki ⁽⁵⁷⁾ sugirieron la existencia de una sustancia, que más tarde se denominó Factor de Relajación Derivado del Endotelio (Endotelium Derived Relaxing Factor, EDRF). El Dr. Moncada y sus colaboradores fueron los primeros en demostrar que el NO era el EDRF ⁽⁵⁸⁾.

1.2.3.2.8.1. Oxido nítrico derivado del endotelio

La acción del NO se asocia con un aumento observado en los niveles de guanilato monofosfato cíclico (GMPc). El aumento de GMPc, modula la actividad de las cinasas dependientes de GMPc, los canales iónicos regulados por GMPc y las fosfodiesterasas reguladas por GMPc. Estos efectores del GMPc están implicados en distintas funciones fisiológicas cardiovasculares (relajación del músculo liso vascular e inhibición de la agregación plaquetaria) y del sistema nervioso (modulación de la transmisión sináptica) ⁽⁵⁹⁾.

Entre las numerosas funciones reguladas por el NO sobre los canales de calcio (Ca²⁺) en la célula muscular lisa, se produce un descenso en la entrada de calcio al interior de la misma que induce la vasodilatación ⁽⁶⁰⁾.

La retirada del endotelio impide la elevación del GMPc y la vasodilatación.

En el año de 1879 cuando William Murrel propuso la administración de nitroglicerina (NTG) sublingual, como remedio para la angina de pecho ⁽⁶¹⁾, vasodilatando principalmente los lechos venosos, con reducción de precarga ventricular y con ello de la presión telediastólica de ventrículo izquierdo, la tensión de pared ventricular, y con ello de la demanda de oxígeno miocárdico, explica el efecto antianginoso. Pero a dosis más elevadas, los nitrovasodilatadores (NVD), tienen también efecto arteriolo dilatador.

Todos estos efectos los efectúan los NVD a través de su transformación enzimática o directa en NO, siendo este el hecho fundamental en el mecanismo de acción in vivo de estas sustancias, realizando todos sus acciones vasculares finales, a través de la misma vía de estimulación del GMPc. Por ello, puede considerarse que el NO derivado del endotelio es en realidad el nitrovasodilatador endógeno, y que las drogas derivadas de la nitroglicerina no son sino imitadoras y sustitutivas de este mediador endógeno ⁽⁶²⁾.

1.2.3.2.8.1.1. Síntesis y metabolismo del oxido nítrico

El NO se sintetiza en las células endoteliales cultivadas a partir del átomo de nitrógeno del grupo guanidino terminal del aminoácido L-arginina ⁽⁶³⁾. Algunos isómeros de L-Arginina, como la L-nitro guanidin-monometil-arginina (L-NMMA), son inhibidores de la síntesis de NO, con lo que inhiben la acción vasodilatadora de sustancias endotelio dependientes como la acetilcolina (Ach), siendo el efecto inhibitor revertido por el

precursor L-Arginina ⁽⁶⁴⁾. Estas sustancias inhibidoras de la síntesis de NO producen un aumento dosis dependiente de la presión de perfusión coronaria y la presión arterial.

Las acciones de la L-NMMA y demás inhibidores son antagonizadas en mayor o menor medida por la L-arginina ⁽⁶⁵⁾.

1.2.3.2.8.1.2. Oxido nítrico y tono vascular

En el año de 1989, Rees, Palmer y Moncada ⁽⁶⁶⁾ mostraron que la administración in vivo de L-NMMA al animal de experimentación aumentaba de forma significativa la TA, y este efecto duraba mientras estuviera bajo los efectos del antagonista. La tensión arterial volvía a sus niveles basales cuando se administraba el precursor del NO, la L-Arginina. Esto demostró que el tono normal de las arterias era dependiente de un permanente tono dilatador producido por la liberación continua de NO.

Otros muchos trabajos de laboratorio y estudios experimentales humanos ⁽⁶⁷⁾ permitieron completar el conocimiento del importante papel del NO en la regulación de los fenómenos vasculares normales, y que en caso de disminución en su síntesis liberación o difusión permite explicar algunos de los mecanismos fisiopatológicos de trastornos tan trascendentes como la hipertensión y la arteriosclerosis. Sin embargo el tono de las arterias, no es dependiente únicamente del efecto de las sustancias dilatadoras como el NO, sino que también están sometidas a un tono vasoconstrictor permanente, dependiente entre otras de sustancias como Angiotensina II y ET-1, que se contraponen al NO ⁽⁶⁸⁾.

Existe una interacción entre ambos, así la ET-1 contribuye a esta regulación estimulando la actividad del NO, siendo este efecto mediado a través de los receptores B de la endotelina y es un mecanismo relevante en las situaciones en las que se produce disfunción endotelial ⁽⁶⁹⁾.

Para que se efectúe la liberación del NO, el flujo pulsátil y el estrés de rozamiento juegan un importante papel. La liberación del NO es controlada por mecanismos locales que responden a estímulos físicos ^(70 71). Aunque también la liberación de NO puede estimularse por la activación simpática y la liberación de NO desde los nervios no adrenérgicos no colinérgicos ⁽⁷²⁾.

1.2.3.2.8.1.3. El óxido nítrico y la función plaquetaria

El NO es además en algunas de sus acciones sinérgico con la prostaciclina, como en la agregación y desagregación plaquetaria, habiéndose sugerido que el efecto fisiológico de las pequeñas concentraciones de prostaciclina plasmática se produce sólo si actúa sobre un fondo de liberación de NO. Sin embargo el NO se diferencia de la prostaciclina en que es además un potente inhibidor de la adhesión plaquetaria ⁽⁷³⁾.

1.2.3.2.8.1.4. El óxido nítrico como neurotransmisor

El NO muestra funciones de neurotransmisor en el sistema nervioso central, como la formación de la memoria de larga duración ^(74 75). En el sistema nervioso periférico es neurotransmisor en una red dispersa, antes conocida como nervios no adrenérgicos no colinérgicos y ahora conocidos como nitrérgicos, dado que funcionan a través de la liberación de NO, y controlan mecanismos como la vasodilatación neurogénica de arterias cerebrales y oculares, la regulación recíproca con los nervios vasoconstrictores adrenérgicos en otras arterias y venas, y en el inicio y mantenimiento de la erección del pene asociado a la participación del NO, en la relajación de los cuerpos cavernosos y distintas funciones en los tractos gastrointestinal y respiratorio.

1.2.3.2.8.1.5. Isoenzimas de la vía L-Arginina-Oxido nítrico

La existencia de una distribución tan extensa en el organismo permitió suponer que la vía enzimática L-Arginina:NO podía estar regulada por distintas enzimas que diferenciaran acciones tan dispersas.

1.2.3.2.8.1.5.1. Sintasa constitutiva L-Arginina:Óxido nítrico

La primera se caracterizó a nivel de las células endoteliales, y más tarde se comprobó que era la misma que se encontraba en plaquetas, cerebro, médula suprarrenal y la que regula la transmisión del sistema neuroefector no adrenérgico no colinérgico.

Este enzima es constitutiva, citosólica, calcio, NADPH y calmodulin dependiente, liberado en orden de picomoles y con una liberación de corta duración, produce la elevación del GMPc por lo que puede considerarse en realidad un sistema de trasducción de la guanilato ciclasa. Se ha clonado y secuenciado, existiendo pequeñas variaciones entre las secuencias de estas enzimas constitutivas entre distintas especies y territorios orgánicos ⁽⁷⁶⁾.

1.2.3.2.8.1.5.2. Sintasa inducible L-Arginina:Oxido nítrico

La acción citotóxica de los macrófagos se realiza a través de la síntesis de NO desde la L-Arginina, como paso previo a su degradación en nitritos (NO₂-) y nitratos (NO₃-). La sintasa NO que produce esta acción se diferencia de la constitutiva endotelial, en que no se detecta en el macrófago a menos que este sea previamente activado con la endotoxina del lipopolisacárido del E. Coli o con gamma interferón.

Existe evidencia de que durante las situaciones de sepsis se activa la sintasa inducible del NO (iNOs), que puede ser medida indirectamente esta acción a través de la elevación del GMPc, y que tiene correlación con la elevación del GMPc intraplaquetario ⁽⁷⁷⁾.

1.2.3.2.8.1.5.3. Sintasa L-Arginina:Oxido nítrico inducible en el lecho vascular

Se ha podido demostrar que este enzima inducible existe también en las células de Kupffer y en los vasos. Que tanto las células endoteliales como las musculares lisas vasculares poseen este segundo enzima inducible.

Una vez inducida la relajación vascular por esta enzima, la arteria no responde a los estímulos vasoconstrictores normales. La recuperación del tono vascular sólo se produce cuando se administran inhibidores de la síntesis de NO, del tipo L-NMMA ⁽⁷⁸⁾.

La presencia de este enzima explica algunos de los cambios que se producen en el choque endotóxico. Se ha demostrado la reversión del estado de choque endotóxico en pacientes humanos con la administración de L-NMMA ⁽⁷⁹⁾ otros estudios no han mostrado beneficio ⁽⁸⁰⁾.

1.2.3.2.8.1.6. Interacción endotelio – leucocito y Oxido nítrico

El NO está involucrado en la interacción entre leucocito/pared vascular. Poco tiempo después de que se descubriese el NO liberado por el endotelio se pudo estudiar el efecto del mismo sobre la adherencia de los leucocitos, encontrando que los inhibidores de la síntesis del NO aumentan la adhesión de los leucocitos más de 15 veces, por lo que comenzó a cobrar importancia como modulador de la adhesión leucocitaria.

La menor síntesis de NO favorecería un patrón de adhesión y migración leucocitaria característica de la inflamación aguda ⁽⁸¹⁾, y una pérdida de proteínas a través del endotelio que es parcialmente revertida por la administración de nitroprusiato sódico, un NVD, que se transforma directamente en NO ⁽⁸²⁾, por lo que se ha propuesto que en realidad el NO endógeno y la prostaciclina ⁽⁸³⁾ pueden modular la interacción monocito – pared vascular y ejercer una auténtica acción antiinflamatoria contrarrestando la acción de otras moléculas proinflamatorias ⁽⁸⁴⁾.

Las alteraciones de este sistema pueden contribuir al incremento en la migración de los monocitos desde el torrente sanguíneo al interior de la pared del vaso, que es uno de los fenómenos más importantes en el desarrollo de la aterosclerosis. Uno de los mecanismos que desencadena precisamente este proceso es el estrés oxidativo sobre las células endoteliales, que reduciendo la síntesis de NO, favorece el reclutamiento leucocitario ⁽⁸⁵⁾.

1.2.3.2.8.1.7. Músculo liso vascular y Oxido nítrico

Las células endoteliales secretan el NO de forma continua, pero cuando se daña o se activan excesivamente las células endoteliales se produce un aumento en la secreción de factores constrictores, como ET-1 y angiotensina II, así como factores que afectan a la diferenciación, crecimiento y migración de las células musculares lisas. Además ET-1 y angiotensina II, inducen la expresión de moléculas de adhesión específicas que pueden actuar con los ligandos correspondientes de los leucocitos y plaquetas favoreciendo su adhesión, mecanismos básicos del desarrollo de la lesión aterosclerótica ⁽⁸⁶⁾.

El bloqueo de estas moléculas en principio constrictoras mejora el funcionamiento endotelial, reduce la neoformación intimal y la migración y replicación del músculo liso vascular ⁽⁸⁷⁾.

La acción antiproliferativa del músculo liso vascular de los inhibidores del enzima convertidor de la angiotensina se ha atribuido a la potenciación de la bradikina (BK). y su acción la efectúa a través de la liberación del NO endotelial ^(88 89), por tanto, el NO es el responsable en parte de la acción antimitogénica de los inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (IECAS).

1.2.3.2.8.1.8. Mecanismos del daño inducido por el Oxido nítrico

Los factores de riesgo cardiovascular como la hipercolesterolemia o la hipertensión arterial pueden reducir la biodisponibilidad del NO a través de tres mecanismos: Por un incremento en la producción de radicales libres por la NADPH oxidasa, que inactiva la formación de NO. En segundo lugar un aumento en la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) a través de radicales libres, que produce una “down-regulation” de la sintasa endotelial de NO (eNOS) y reduce la estabilidad intracelular de su ácido ribonucleico mensajero. Y en tercer lugar se produce un aumento de asimétrica dimetil arginina (ADMA) un análogo endógeno de la L-arginina, capaz de inhibir competitivamente la síntesis de NO, al igual que lo hacen los análogos sintéticos, como L-NMMA. Paralelamente a la reducción de la síntesis de NO, se incrementa la actividad de síntesis endotelial de ET-1 y angiotensina II, lo que en término netos conduce a mayor vasoconstricción y daño arterial ⁽⁹⁰⁾.

En esta situación de estrés oxidativo se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres, los cuales reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos, ácido desoxirribonucleico (ADN) en el interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular.

Para poder sobrevivir en este medio, los organismos vivos generan y obtienen del medio, compuestos antioxidantes solubles en agua o en lípidos y también sintetizan una serie de enzimas antioxidantes y enzimas reparadoras del daño celular, cuya función es interceptar e inactivar compuestos intermediarios reactivos del oxígeno. El sistema antioxidante está formado por sustancias que previenen la oxidación.

1.3. INTEGRIDAD ENDOTELIAL

Por su interacción con todos los órganos y sistemas, la integridad endotelial es sinónimo de salud cardiovascular y de salud del organismo. Cuando se produce la enfermedad de un órgano, o cuando el aparato cardiovascular sufre la agresión de alguno de los llamados factores de riesgo cardiovascular, el endotelio tiende a responder como un todo. Esto lleva a que el endotelio comience a cambiar la expresión de las moléculas que mantienen su homeostasis normal, por un balance distinto donde reduce la expresión de moléculas dilatadoras, aumenta las vasoconstrictoras, y se expresan o inducen citocinas y moléculas de adhesión que favorecen la activación de plaquetas y leucocitos. El mecanismo desencadenante puede estar en la activación e incremento de los radicales libres de oxígeno ⁽⁹¹⁾.

Dos términos se han empleado para expresar la respuesta de las células endoteliales a las distintas situaciones normales o patológicas en las que su control y respuesta es determinante. Uno es el término activación endotelial, el otro disfunción endotelial.

1.3.1. Activación endotelial

El término de activación del endotelio parece que implica un estado binario: bien activado o desactivado. Según esta hipótesis, las células endoteliales quiescentes expresan un fenotipo vasodilatador, anticoagulante y antiadherente, mientras que las células activadas expresan propiedades vasoconstrictoras, proadherentes y procoagulantes. Pero este concepto de que las células endoteliales o están o no están activadas es muy simplista ⁽³⁶⁾.

Se deben tener en cuenta varios requisitos para entender como funcionan.

Primero, las células endoteliales siguen un espectro de respuesta y es por tanto más semejante a una respuesta digital que a una respuesta de todo o nada.

En segundo lugar lo que en un momento y en un territorio endotelial puede significar activación celular no cumple con la misma definición en otro territorio o momento.

En tercer lugar, no todos los mediadores inflamatorios se inducen de igual forma. Por ejemplo, el tratamiento de células endoteliales de venas umbilicales humanas con TNF alfa e IL-6 produce una expresión de genes que se superponen, pero que no son idénticos, cada mediador estimula el endotelio de una forma única, singular ⁽⁹²⁾.

En cuarto lugar, el término activación, implica que el endotelio normal es inactivo por defecto. Nada más lejos de la realidad. El endotelio intacto, está constantemente recibiendo mensajes y respondiendo a los cambios en el medio extracelular local, como ocurre cuando existe una bacteriemia transitoria, un pequeño trauma u otros tipos de pequeños estímulos que ocurren continuamente sin que incluso los percibamos como tales. En otras palabras, la activación celular no es una respuesta de todo o nada ni necesariamente está vinculada a una enfermedad. La activación endotelial representa un espectro de respuestas y sucede en situaciones fisiológicas y fisiopatológicas.

1.3.2. Disfunción endotelial

El término disfunción endotelial emergió a comienzos de los 80⁽⁹³⁾. En 1981 un año antes de que se describiera la acción relajadora dependiente del endotelio, se describió que el daño del endotelio en el lecho vascular pulmonar puede contribuir al desarrollo de hipertensión pulmonar, a través de un cambio en la reactividad de vascular a la Ach y a la BK, que pasaban de relajarse a contraerse con esos estímulos⁽⁹⁴⁾.

En 1982, el mismo año en que Furchgott describe la acción relajadora del endotelio, se describe que el endotelio de las arterias coronarias dañadas por isquemia aguda podría jugar un papel importante en la patogenia del espasmo coronario⁽⁹⁵⁾. A partir de estas fechas comienza a ser común el término de disfunción endotelial en la literatura médica⁽⁹⁶⁾.

Se define la disfunción endotelial como la situación en la que en presencia de un endotelio morfológicamente normal, este no responde con una dilatación normal o completa ante el estímulo de sustancias como Ach o la BK, que ejercen su efecto vasodilatador a través de la liberación del NO. Sin embargo, la arteria tiene una respuesta relajadora completa al estímulo con nitroglicerina, nitroprusiato sódico, o cualquier otro nitrovasodilatador. Como ya hemos señalado estas moléculas se convierten en su metabolismo intracelular en NO, ejerciendo por tanto la acción dilatadora independiente de la producción de NO endógeno por la célula endotelial⁽⁹⁷⁾.

La presencia de disfunción endotelial se entiende ya como uno de los mecanismos desencadenantes o precoces que conducen a una alteración más avanzada y severa en el proceso aterosclerótico, en múltiples trastornos o factores de riesgo cardiovasculares⁽⁹⁸⁾.

Desde el punto de vista patogénico, se considera que la “endoteliopatía” podría ser debida a factores extrínsecos tóxicos para el endotelio (hiperglucemia, dislipemia, estrés oxidativo, tabaquismo, etc.) o podría ser expresión de un daño intrínseco primario de la membrana celular que a su vez justificaría la aparición secundaria de resistencia a la insulina, hipertensión arterial, etc...⁽⁹⁹⁾

La endoteliopatía se considera hoy que es un marcador de daño vascular, ya que desempeña un papel fundamental en la iniciación, progresión y aparición de las manifestaciones clínicas de trastornos tan importantes como la aterosclerosis, el shock séptico, la angiopatía diabética, etc. Este trastorno es un fenómeno precoz en las enfermedades, que puede detectarse antes de que aparezcan las lesiones morfológicas y, por supuesto, las manifestaciones clínicas.

Como lo sugieren diversos trabajos, existe una buena correlación entre la respuesta vasomotora endotelio dependiente de las coronarias y la vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial, de manera que los datos obtenidos en la braquial podrían ser extrapolables a lo que ocurre en la coronaria, y al sistema arterial sistémico ⁽¹⁰⁰⁾.

La disfunción endotelial no es más que una parte del proceso aterosclerótico. En este sentido, hay numerosos datos que apoyan la teoría de que en la evolución de la aterosclerosis se produce un proceso inflamatorio crónico arterial de bajo grado en el que están involucrados factores locales y generales ⁽¹⁰¹⁾ de manera que los marcadores de actividad inflamatoria, como proteína C reactiva (PCR), son capaces de predecir el riesgo cardiovascular, incluso en personas aparentemente sanas ⁽¹⁰²⁾.

1.3.2.1. Métodos de estudio de la función endotelial

Existen numerosas formas de valorar la disfunción endotelial, pero todas ellas tienen sus limitaciones, por lo que no existe una única técnica sencilla que sirva para identificarla.

1.3.2.1.1. Estudio de la vasodilatación endotelio-dependiente mediada por flujo

El estudio de la vasodilatación endotelio-dependiente mediada por flujo es un test funcional de la capacidad arterial para aumentar el flujo sanguíneo tras inducir isquemia.

Para esta función se requiere liberación de NO y de otros agentes vasodilatadores

endoteliales, y una respuesta adecuada del músculo a la hipoxia; no es por tanto una prueba específica para valorar la función endotelial. Se necesita una técnica (ecografía de alta resolución, pletismografía) que permita medir con exactitud cambios de flujo o del diámetro de las arterias. Como los test biológicos tienen una variabilidad inherente importante. Esta respuesta debe compararse con la que inducen los donantes exógenos de NO (NTG).

1.3.2.1.2. Pletismografía por oclusión venosa intermitente

La pletismografía es una técnica que ha sido empleada para medir la presión arterial sistólica y la diferencia en la onda de pulso entre dos extremidades. La variación del volumen se registra gracias a una tira elástica que contiene mercurio, que se coloca alrededor del antebrazo (Figura 2).

Los cambios en el volumen durante el período de inflado permite registrar las medidas, y sus variaciones durante los períodos en los que a la extremidad se la somete a los distintos estímulos. Con esta técnica podemos también infundir otras sustancias que nos permiten estudiar no solo la vía L-arginina-NO, sino también cualquier otra molécula sintetizada en la capa endotelial o pared vascular que tenga acción sobre el tono del músculo liso vascular ⁽¹⁰³⁾.



Figura 2. Pletismografía por oclusión venosa intermitente.

1.3.2.1.3. Pletismografía venosa del dorso de la mano

Los estudios de distensión venosa se realizan tras la inserción de una aguja mariposa 23G en una de las venas más apropiada del dorso de la mano, con la mano elevada colocando el brazo apoyado en un plano inclinado de 30°, de modo que permita el vaciamiento espontáneo de las venas del dorso de la mano.

Se coloca un trípode que sostiene un transformador diferencial lineal variable en cuyo centro se desliza verticalmente una fina barra de acero. Esta pequeña barra se coloca a 10 mm del extremo de la aguja insertada en la vena en estudio, y se desplaza con los movimientos de distensión y constricción de la vena (Figura 3).

Los desplazamientos verticales permiten medir las variaciones en el diámetro de la vena. Los resultados se presentan como curvas dosis respuesta ^(104 105).

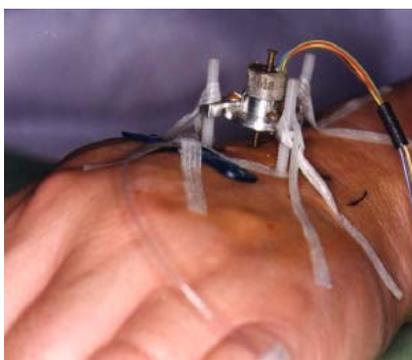


Figura 3. Pletismografía de la vena del dorso de la mano.

1.3.2.1.4. Técnicas de hiperemia reactiva

Para estudiar poblaciones numerosas se han desarrollado las técnicas de hiperemia reactiva utilizando mediciones mediante pletismografía y de ultrasonido, que permiten valorar la dilatación arterial en el antebrazo tras la oclusión isquémica del mismo y que simplifica las técnicas de infusión de drogas intravasculares ^(106 107). Estas técnicas consisten en la oclusión isquémica (200 mmHg) del flujo del brazo.

La liberación, el desinflado del manguito tras esta oclusión produce una hiperemia, un flujo que por el estrés de rozamiento que produce, es capaz de liberar las sustancias endoteliales capaces de producir la dilatación arterial (Figura 4).

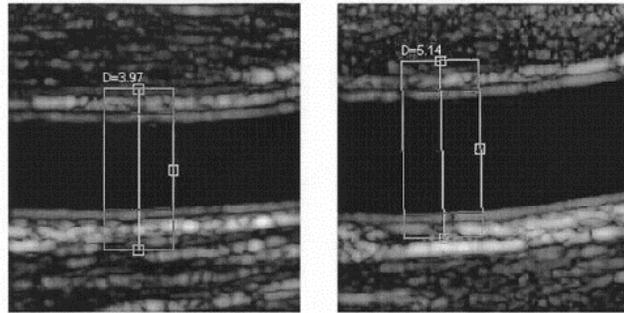


Figura 4. Hiperemia reactiva, determinación del aumento del diámetro arterial braquial por ecografía.

Empleando el sistema de oclusión isquémica y midiendo el perímetro de la extremidad mediante pletismografía se obtienen graficas como la siguiente:⁽¹⁰⁸⁾ (Figura 5).

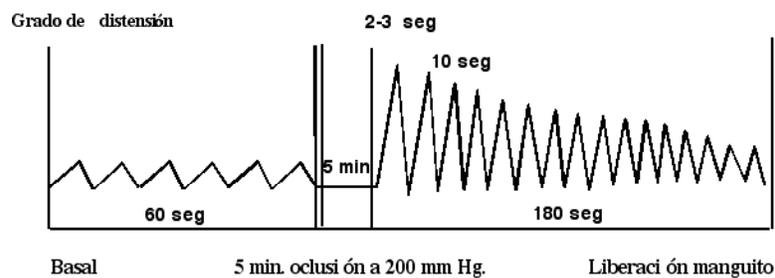


Figura 5. Hiperemia reactiva, medido mediante pletismografía.

En todos los casos, la mayor distensión ocurre al inicio de la liberación del manguito de compresión, y va decayendo la dilatación progresivamente, mediante esta técnica conseguimos determinar varios valores en la extremidad, como son el flujo basal (FB), el flujo máximo en hiperemia reactiva (FHR) y el incremento de flujo ⁽¹⁰⁸⁾.

1.3.2.2. Marcadores bioquímicos de disfunción endotelial

1.3.2.2.1. GMPc

El NO activa la guanilato ciclasa, lo que se traduce en una mayor síntesis GMPc que a su vez interacciona con el Ca^{++} del músculo liso vascular, lo que da lugar a vasodilatación ⁽¹⁰⁹⁾.

La valoración de la liberación de NO es particularmente difícil teniendo en cuenta su brevísima semivida y la existencia de proteínas transportadoras.

Se han desarrollado electrodos para medir específicamente el NO y se han determinado los niveles de nitratos y nitritos (metabolitos finales del NO) en sangre y orina. Estas técnicas tienen sus limitaciones: si se mide NO con un electrodo específico sólo nos informa de lo que ocurre en ese lugar, no de lo que ocurre en todo el organismo.

Por otra parte los nitratos / nitritos pueden proceder no sólo del endotelio, sino también del sistema monocitos-macrófagos. El GMPc es el segundo mensajero, mediador intracelular de las acciones del NO, que actúa disminuyendo el Ca^{++} intracelular y por tanto relajando el músculo liso ⁽¹¹⁰⁾. Aunque no todos los efectos del NO son mediados por la formación de GMPc (como por ejemplo los efectos tóxicos), si es verdad que la formación de GMPc es el mediador de los diferentes efectos del NO sobre el árbol vascular. En la práctica clínica los niveles plasmáticos y urinarios de GMPc podrían ser un reflejo de la síntesis vascular de NO. Esta sería pues una medida más indirecta de la síntesis vascular intracelular de NO, aunque también informa de la síntesis plaquetaria de NO ⁽¹¹¹⁾.

1.3.2.2.1.1. GMPc y patología vascular

Las implicaciones de la existencia de un tono vasodilatador mediado por NO son muchas. El sistema vascular es un sistema de resistencia contra el que el corazón bombea la sangre, sistema que se ve modificado por influencias vasodilatadoras y vasoconstrictoras. En el lado arterial hay una continua liberación de NO que actúa sobre la musculatura lisa contribuyendo al mantenimiento de un tono vasodilatador inducido principalmente por estímulos mecánicos como son el flujo pulsátil y las fuerzas de cizallamiento. Así, el NO puede ser entendido como el nitrovasodilatador endógeno. Además el NO puede regular la actividad simpática, contribuyendo al tono vasodilatador, y por último el NO regula la

excreción de sodio por el riñón ⁽¹¹²⁾. Además el NO inhibe la agregación plaquetaria por un mecanismo GMPc dependiente, sinérgico con la prostaciclina que a su vez inhibe la agregación incrementando los niveles de AMPc, además inhibe la adhesión de las mismas al endotelio, a la matriz extracelular y a las fibras de colágeno. Así mismo causa desagregación de las plaquetas, ya agregadas de manera sinérgica con la prostaciclina, lo que sugiere que la liberación de NO y PGI₂ por el endotelio vascular juega un papel importante en las propiedades tromboresistentes y por tanto papel citoprotector ^(113 114).

La presencia de una NO sintetasa en las plaquetas fue demostrada por resonancia electrónica en 1992 ⁽¹¹⁵⁾. Por tanto la agregación plaquetaria in vivo es controlada por NO intraplaquetario y el NO y PGI₂ liberadas por el endotelio vascular ⁽¹¹⁶⁾. De todo esto se deduce que anomalías de la vía L-Arg : NO : GMPc pueden contribuir a los procesos patológicos que afectan al sistema vascular. Un déficit de síntesis podría potenciar la vasoconstricción, adhesión, y agregación plaquetaria, y por lo tanto trombosis. La producción excesiva tendería hacia la vasodilatación y la hipotensión. Así, la hipertensión, la angina de pecho, la cardiopatía coronaria, la diabetes mellitus, eclampsia, hiperlipidemia... son procesos en los que se ha demostrado una alteración en la vía del NO ⁽¹¹⁷⁾.

1.3.2.2.2. Selectina-E

La Selectina-E es una molécula de adhesión, que participa en las relaciones entre las células circulantes y el endotelio tanto en fisiología humana, como en el desarrollo de diferentes procesos patológicos asociados a ausencia, disfunción o sobreexpresión de estos receptores ⁽¹¹⁸⁾.

Es una glucoproteína de 115 kDa. Se expresa sólo en el endotelio activado. Las selectinas tienen un papel fundamental en el reconocimiento inicial de los leucocitos y plaquetas por el endotelio ⁽¹¹⁹⁾. No se expresa basalmente ni se almacena, pero es inducida por TNF alfa, IL-1 o endotoxina; su expresión máxima in vitro se produce a las 4-6 horas (Hrs) de la estimulación y es prácticamente nula a las 24 horas, in vivo, sin embargo, puede detectarse en 1-2 horas. Es una molécula fundamental para la unión de los leucocitos al endotelio activado. Solo se induce la expresión de la Selectina-E tras la activación del mismo; por ello, la demostración de Selectina-E soluble en cantidades apreciables en sangre debe ser tenida en cuenta como expresión de activación endotelial ^(51 120).

1.3.2.2.2.1. Selectina-E y patología vascular

En general cualquier proceso que curse con “disfunción endotelial” puede tener un patrón alterado de expresión de esta molécula en el propio endotelio y en la sangre. La aterosclerosis, una afectación de los grandes vasos de origen multifactorial con un componente inflamatorio y que cursa con “disfunción endotelial”, muestra una expresión alterada de diferentes moléculas de adhesión tanto a nivel endotelial como plasmático, aunque los datos hasta la fecha son pocos y no concluyentes, necesitándose aún más estudios sobre la relevancia de los cambios en los niveles plasmáticos de estas moléculas ⁽¹²¹⁾. Ridker y colaboradores ⁽¹²²⁾ han intentado relacionar la concentración plasmática de moléculas de adhesión con el infarto agudo de miocardio, encontrando un aumento del riesgo de padecer infarto agudo de miocardio en aquellos sujetos sanos con los niveles más elevados de ICAM dentro de los valores normales ⁽¹²³⁾.

1.3.2.2.3. Enzima convertidora de angiotensina

El sistema renina-angiotensina juega un papel fundamental en el sistema cardiovascular debido a sus diferentes funciones sobre el control de fluidos, electrolitos y tensión arterial. Los riñones producen renina en respuesta a cambios en el flujo sanguíneo o perfusión renal, la cual actúa sobre el angiotensinógeno para producir angiotensina I. La enzima convertidora de angiotensina (ECA) es una enzima producida por las células endoteliales (principalmente pulmonar) y las células del sistema retículo-endotelial (macrófagos y células epitelioides), que convierte la angiotensina I en angiotensina II al escindir los dos aminoácidos C-terminales de la angiotensina I, y además, es una potente cininasa. Aparte de su función vasoconstrictora, la angiotensina posee propiedades protrombóticas, proinflamatorias y proaterogénicas ya que facilita las interacciones leucocito-endoteliales e incrementa la génesis de citocinas.

En este contexto, la ECA juega un papel fundamental en la regulación de sustancias vasoactivas ya que las fluctuaciones en los niveles de ECA modifican el índice producción de angiotensina: degradación de bradicininas en diferentes tejidos ⁽¹²⁴⁾. Así, la elevación de los niveles séricos de ECA se asocia a menudo con un estado de disfunción endotelial, en el que además se observa una menor actividad del NO. Este efecto se debe a la degradación de la bradicinina, un estimulador endógeno de la producción de NO por las células endoteliales.

1.3.2.2.3.1. ECA y patología vascular

A pesar de su utilización como marcador de “disfunción endotelial”, hay que tener en cuenta su falta de especificidad debido a su elevación en otros procesos patológicos: sarcoidosis, lepra, tuberculosis, enfermedades micóticas, amiloidosis...

El conocimiento de este sistema permitió el ensayo de nuevas acciones terapéuticas para el restablecimiento de la función endotelial. En este sentido, los IECAS han sido utilizados con éxito tanto en modelos animales como humanos.

Aunque inicialmente el efecto reparador de la función endotelial de los IECAS se atribuyó al descenso en los niveles de angiotensina II y por tanto a la prevención de sus efectos deletéreos (estímulo de la síntesis de ET, t-PA, factor de crecimiento plaquetario, Factor de crecimiento tumoral β y citocinas), numerosos estudios han demostrado que el principal efecto de los IECAS es permitir la acumulación de las cininas en la pared vascular ⁽¹²⁵⁾. Existen 2 receptores para las cininas (B_1 y B_2). El receptor B_2 se expresa de manera constitutiva en las células endoteliales y su activación está ligada a proteínas G que activan la fosfolipasa C. La elevación en los niveles de inositol fosfato y consecuentemente de los niveles intracelulares de Ca^{++} estimula la síntesis de NO y la movilización de ácido araquidónico cuyo procesamiento lleva a la síntesis de PGI_2 ⁽¹²⁶⁾.

1.3.2.2.4. Factor Von Willebrand

El factor von Willebrand (vWf) es una proteína heteropolimérica que se sintetiza exclusivamente en megacariocitos y células endoteliales. Podemos encontrar factor Von Willebrand en los gránulos α plaquetarios, en el plasma y en el subendotelio. Se acumula en los cuerpos de Weibel-Palade de las células endoteliales, de los cuales puede ser liberado mediante diferentes estímulos fisiológicos ^(127 128).

1.3.2.2.4.1. Factor Von Willebrand y patología vascular

Numerosos estudios han demostrado elevación de los niveles plasmáticos de vWf en diferentes procesos que cursan con “disfunción endotelial”, y una fuerte asociación del vWf con procesos de trombogénesis o aterogénesis. Todo ello sugiere la posibilidad de su utilización como “marcador de disfunción endotelial” y como indicador de trombosis o aterosclerosis. En algunas ocasiones la interpretación de los niveles elevados de vWf es

complicada debido a que dicho factor presenta las características de un reactante de fase aguda, elevándose en situaciones como infecciones, inflamaciones y neoplasias, reflejando entonces activación y ausencia de disfunción endotelial ⁽¹²⁸⁾. Brevemente citaremos alguno de los procesos patológicos en los que se ha demostrado un incremento en los niveles plasmáticos de vWf: a) en la cardiopatía isquémica los niveles plasmáticos de vWf son factor pronóstico de la evolución del proceso, de tal manera que la elevación de sus niveles es considerado predictor de nuevos eventos isquémicos; b) en la enfermedad vascular periférica los niveles elevados de vWf correlacionan con la severidad de la enfermedad; c) en procesos que cursan con tromboembolismo (fibrilación auricular, estenosis mitral, insuficiencia cardíaca izquierda, aneurisma ventricular, trombosis venosa, enfermedad cerebrovascular); d) en la hipertensión pulmonar; e) en la hipertensión arterial se observan niveles elevados de vWf que correlacionan con la tensión arterial diastólica, que sólo en algunos estudios descienden tras el tratamiento; y f) en diferentes procesos inflamatorios vasculares (vasculitis, poliarteritis nodosa, ...) ⁽¹²⁹⁾.

1.3.2.3. Marcadores de riesgo cardiovascular

Las moléculas marcadores de daño vascular están íntimamente relacionadas con la evolución de la aterosclerosis. Entre ellas se encuentran la PCR, el Fibrinógeno (Fb), la fosfolipasa secretora A₂, la glucoproteína α -1 ácida, la proteína amiloide sérica A, etc., así como las citocinas y quimiocinas pro y antiinflamatorias (IL-1, Interleucina 6, TNF, Interleucina 4, Interleucina 10). Todas estas proteínas pueden medirse en sangre. Son determinaciones poco específicas pero algunas de ellas muy sensibles para pronosticar complicaciones vasculares.

1.3.2.3.1. Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido con un grupo sulfuro que se forma a partir del metabolismo de la metionina ⁽¹³⁰⁾. Numerosos estudios epidemiológicos sugieren que los individuos con niveles elevados de homocisteína (niveles en ayuno superior a 16 μ mol/L) tienen mayor riesgo de padecer un evento cardiovascular ^(131 132 133). Además esta asociación entre hiperhomocisteinemia y riesgo cardiovascular parece ser independiente

de otros conocidos factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial, hipercolesterolemia ⁽¹³⁴⁾.

Existen razones fundamentales que pueden producir niveles elevados de homocisteína en plasma que son: 1) deficiencias enzimáticas (como la deficiencia de metil tetrahidrofolato reductasa) y mutaciones, 2) factores nutricionales (como ingestas inadecuadas o deficiencias de vitaminas que son fundamentales para el metabolismo de la homocisteína –folato, vitamina B6 y vitamina B12-) ⁽¹³⁵⁾. Otros factores de menor importancia que podrían influir en los niveles plasmáticos de homocisteína son: características demográficas (edad, sexo, tabaquismo, menopausia) ⁽¹³⁶⁾, enfermedades crónicas (insuficiencia renal, diabetes, neoplasias, ...), reacción de fase aguda, y drogas (terapia hormonal de la menopausia, anticonvulsivos, folato y antagonistas de la vitamina B) ^(137 138).

1.3.2.3.1.1. Homocisteína y patología vascular

Se han propuesto diversos mecanismos como responsables probables del daño vascular atribuible al aumento de homocisteína en plasma incluyendo la descamación de las células endoteliales, la producción de radicales de oxígeno y oxidación de las lipoproteínas de baja densidad, el incremento de la adhesión de monocitos a la pared vascular, proliferación del músculo liso vascular, aumento de la adherencia plaquetaria a la pared vascular y disfunción endotelial debida a una alteración de la vasodilatación endotelio dependiente ⁽¹³⁹⁾.

También se han relacionado los niveles elevados de homocisteína plasmática (16 $\mu\text{mol/L}$) con incremento de riesgo cardiovascular debido a un aumento en la adhesión monocitaria al endotelio ⁽¹⁴⁰⁾. Actualmente se focalizan muchos estudios en la posible alteración de la disfunción endotelial debida a hiperhomocisteinemia, debido a la posición estratégica del endotelio ⁽¹⁴¹⁾.

1.3.2.3.2. Fibrinógeno

El Fb se sintetiza en el hígado a partir de tres subunidades individuales ($A\alpha$, $B\beta$, y γ) ⁽¹⁴²⁾. La escisión de las cadenas $A\alpha$ por una serínproteasa, la trombina, es el proceso inicial en la conversión de Fb a fibrina. La eliminación de los fibrinopéptidos $A\alpha$ y B (de la cadena $B\beta$)

da lugar a una molécula modificada, el monómero de fibrina. La escisión de los fibrinopéptidos deja libres nuevos residuos aminoterminales que interactúan con la región carboxiterminal de las cadenas adyacentes produciéndose uniones no covalentes entre diferentes monómeros de fibrina, la cual se polimeriza en un gel insoluble. La fibrina, así formada, estabiliza el “tapón” hemostático primario (hemostasia secundaria) ⁽¹⁴³⁾.

La actividad fibrinolítica es fundamental en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular, manteniendo un balance entre coagulación y fibrinólisis que evita la excesiva formación de trombos y por tanto la oclusión vascular.

El Fb y la fibrina insolubles participan en la adhesión plaquetaria (por unión a los complejos formados entre las glucoproteínas IIb y IIIa de la membrana) y agregación, en situaciones de bajo rozamiento. Además de participar en los procesos de coagulación, el Fb participa en la regulación de la adhesión leucocitaria al endotelio vascular, a través de ligandos diferentes de los de la adhesión plaquetaria, los cuales se unen a diferentes moléculas de adhesión que actúan como “receptores” del Fb ⁽¹⁴³⁾.

1.3.2.3.2.1. Fibrinógeno y patología vascular

En la última década numerosos estudios han demostrado que el Fb es un factor independiente de riesgo cardiovascular ⁽¹⁴⁴⁾, y se han identificado diversos mecanismos por los cuales el Fb favorece la aterosclerosis.

La interpretación de los niveles plasmáticos de Fb es difícil debido a la existencia de una serie de factores no patológicos que aumentan los niveles plasmáticos de Fb ⁽¹⁴⁴⁾. Además, el Fb se asocia de manera positiva con la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular, y existe una correlación inversa entre Fb y triglicéridos de alta densidad (HDL) ⁽¹⁴⁴⁾. De una parte estos datos sugerirían que la relación del Fb con la enfermedad cardiovascular se debe a su asociación con los verdaderos factores de riesgo cardiovascular; de otra parte el Fb podría representar el mecanismo por el cual otros factores de riesgo llevan a enfermedad cardiovascular; en tercer lugar algunos autores expresan la idea de que el Fb no sea un verdadero factor de riesgo cardiovascular sino simplemente un marcador de la misma debido a su acción como reactante de fase aguda ^(145 146).

El Fb favorece los procesos de trombosis y aterosclerosis, y se encuentra elevado en situaciones tales como la cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular isquémica y

enfermedad vascular periférica; en estas situaciones y según el momento de la evolución, la elevación de los niveles plasmáticos de Fb se ha interpretado como una respuesta de fase aguda o como un factor predictivo de nuevos eventos vasculares ⁽¹⁴⁷⁾. Los mecanismos por los cuales el Fb favorece la trombosis y la aterosclerosis no son del todo conocidos, aunque su participación en los procesos de coagulación sanguínea y su función como reactante de fase aguda, son candidatos a tener en cuenta.. Las relaciones fibrinógeno-leucocitarias, son consideradas fundamentales en la asociación entre hiperfibrinogenemia y riesgo cardiovascular ^(148 149).

1.3.2.3.3. Proteína C reactiva

Una proteína de fase aguda es aquella cuya concentración plasmática aumenta o desciende al menos un 25% durante los procesos inflamatorios. Una de estas proteínas es la PCR, un componente del sistema inmune innato, la cual activa el Sistema del Complemento, activa el sistema fagocítico a través de su interacción con factores humorales o celulares del sistema inflamatorio, induce la síntesis de citocinas proinflamatorias y modula la función de los polimorfonucleares ⁽¹⁵⁰⁾. En el caso de la PCR su concentración plasmática durante el proceso inflamatorio puede elevarse hasta 1000 veces su valor ⁽¹⁵¹⁾.

1.3.2.3.3.1. Proteína C reactiva y patología vascular

Los procesos cardiovasculares a menudo ocurren entre personas que no presentan ninguno de los tradicionales factores de riesgo por lo que en las últimas décadas, y basándose en la idea de que la inflamación es un mecanismo clave tanto en la aterogénesis como en la progresión de los accidentes coronarios, se ha investigado sobre la posibilidad de utilizar nuevos “marcadores séricos” de inflamación en un intento de reconocer aquellas personas con riesgo de aterotrombosis prematura. Son muchos los estudios que han demostrado que la elevación de marcadores de inflamación en sangre, tales como la PCR, el Fb, la proteína amiloidea sérica A, diferentes citocinas o moléculas de adhesión entre otros, se asocia de manera independiente con un aumento en el riesgo de eventos cardíacos, tanto en pacientes con arteriopatía coronaria como en personas aparentemente sanas ⁽¹⁵⁰⁾. Los reactantes de fase aguda son marcadores sensibles, aunque no específicos. Diferentes citocinas (Interleucina 6, Interleucina 1B, factor de crecimiento tumoral α) en respuesta al estrés metabólico, infección

o inflamación, son las principales responsables del aumento de expresión estos marcadores de inflamación por el hígado. Lo que no está tan claro es el origen del aumento de la expresión de citocinas en esta situación, aunque existen diferentes hipótesis (ateroesclerosis, miocardio, tejido adiposo...) ⁽¹⁵²⁾. La PCR es uno de los marcadores que más importancia ha adquirido en los últimos años determinada mediante un ensayo de alta sensibilidad y buena reproducibilidad ⁽¹⁵³⁾ de tal manera que la PCR es considerada el marcador inflamatorio en el que más se han focalizado los estudios sobre nuevos marcadores. Se ha demostrado una asociación importante entre la PCR y el riesgo cardiovascular ⁽¹⁵²⁾. Los pacientes con angina inestable y con concentraciones más altas de PCR mostraron más probabilidades de morir durante el ingreso ⁽¹⁵⁴⁾. Por tanto, el aumento de los niveles séricos de PCR es un predictor independiente del riesgo de procesos cardíacos y su medida junto con la determinación de lípidos plasmáticos ha demostrado un aumento en la predicción y pronóstico de eventos cardiovasculares adversos, tanto en personas con proceso coronario previo como en pacientes con enfermedad cardiovascular periférica o en individuos aparentemente sanos ^(155 156).

1.3.2.3.4. Lipoproteína (a)

La lipoproteína (a) fue descrita por Berg en 1963 ⁽¹⁵⁷⁾ como una variante genética de las lipoproteínas de baja densidad con una movilidad electroforética pre-beta. Su metabolismo es independiente del de las LDL ⁽¹⁵⁸⁾, su composición lipídica y proteica es similar a las LDL, aunque contiene una apoproteína adicional, la apo (a), que le confiere características fisicoquímicas específicas ⁽¹⁵⁹⁾, tiene gran similitud estructural con el plasminógeno y tiene atribuidas propiedades trombogénicas ⁽¹⁶⁰⁾.

1.3.2.3.4.1. Lipoproteína (a) y patología vascular

El aumento de la concentración plasmática de Lp (a) se asocia con un mayor riesgo de desarrollo prematuro de aterosclerosis en arterias coronarias ⁽¹⁶¹⁾, cerebrales y en las extremidades inferiores ⁽¹⁶²⁾. Constituye un factor de riesgo independiente al LDL colesterol para la enfermedad cardiocoronaria (ECC) en sujetos jóvenes ⁽¹⁶³⁾, y se han utilizado como marcador de ECC en los pacientes afectados de hipercolesterolemia familiar y por su alta aterogenicidad, su incremento aun con valores normales de colesterol y triglicéridos se considera un factor de riesgo para ECC ⁽¹⁶⁴⁾.

1.4. EJERCICIO Y ENDOTELIO VASCULAR

Aunque las personas sedentarias al realizar ejercicio de forma súbita y vigorosa pueden precipitar una isquemia cardíaca ^(165 166) al realizar ejercicio aeróbico de forma habitual se previenen eventos cardiovasculares tanto primarios como secundarios ⁽¹⁶⁷⁾. También se ha demostrado en modelos animales que debido al ejercicio se puede inhibir la progresión de lesiones coronarias ⁽¹⁶⁸⁾.

Se estima que un promedio de gasto energético en ejercicio aeróbico de 1,500 Kilocalorías por semana detiene la progresión de las lesiones coronarias y que un gasto energético de 2,200 Kilocalorías por semana puede incluso causar una regresión en las lesiones coronarias. Este último gasto energético equivale a 5-6 horas de ejercicio aeróbico moderado en una semana ⁽¹⁶⁹⁾.

El ejercicio condiciona aumento en la complianza arterial además de cambios favorables en la tensión arterial, lípidos plasmáticos y lipoproteínas y metabolismo de la glucosa y la insulina, que confieren el efecto protector ⁽¹⁵⁾.

Un periodo de ejercicio regular de 14 semanas (Sem) puede restablecer parcialmente la pérdida de complianza arterial de varones adultos y mayores que han sido sedentarios, independientemente de su índice de peso corporal, tensión arterial, estado metabólico o capacidad aeróbica ⁽¹⁵⁾.

1.4.1. Estudios pletismográficos relacionados con el ejercicio

La técnica de pletismografía para el estudio arterial y venoso en extremidades fue descrita por Whitney ⁽¹⁷⁰⁾. Utilizando diferentes periodos de isquemia en la extremidad, Kroese estudio mediante esta técnica la hiperemia reactiva ⁽¹⁷¹⁾ y el efecto de la inactividad física ⁽¹⁷²⁾ concluyendo que puede ser un factor para una disminución de flujo arterial en hiperemia reactiva. En estudios posteriores demostró mayores flujos arteriales y tiempos de aumento en el flujo arterial en grupos de adultos con entrenamiento físico con relación a grupos de adultos sin entrenamiento físico mediante la técnica de hiperemia reactiva con medición del flujo arterial mediante pletismografía. Se concluye en ese estudio que el entrenamiento físico debe ser considerado al utilizar la técnica de hiperemia reactiva

mediante pletismografía arterial ⁽¹⁷³⁾ sin embargo no se realizaron marcadores bioquímicos de disfunción endotelial o de riesgo cardiovascular.

La vasodilatación en respuesta a la administración de nitroglicerina es mayor en sujetos con antecedente de ejercicio crónico que en sujetos sedentarios ⁽¹⁷⁴⁾.

Como consecuencia del ejercicio, el aumento del gasto cardíaco, produce un aumento del flujo sanguíneo que actúa sobre la pared de los vasos sanguíneos como estímulo mecánico, a través de dos fuerzas principales: la tensión pulsátil y la tensión de roce (shear stress). Este estímulo mecánico al actuar sobre el endotelio vascular induce la liberación de una serie de factores, que regulan la homeostasis vascular favoreciendo la vasodilatación mediada por el endotelio.

El aumento crónico de la tensión de roce condicionado por ejemplo por el ejercicio, mejora la función endotelial tanto en animales como en humanos Niebauer ⁽¹⁷⁵⁾. En esta revisión se describen los mecanismos mediante los cuales se ha demostrado que el aumento de tensión de roce condiciona incremento en la liberación de NO y prostaciclina y su relación con la inhibición de procesos de aterogénesis y reestenosis arterial. Más aun en el estudio del Dr. De Berrazuela se demostraron niveles basales de nitritos más elevados en sujetos que realizaban ejercicio de manera habitual que en sujetos sedentarios ⁽¹⁷⁶⁾.

1.4.2. Marcadores de disfunción endotelial y ejercicio

1.4.2.1. Oxido nítrico y ejercicio

La evidencia epidemiológica sugiere que el realizar ejercicio regularmente contribuye a un aumento en la tensión de roce vascular que disminuye el riesgo cardiovascular debido a una mejor función endotelial que se explica mediante un incremento en la liberación de NO, prostaciclina y su relación con la inhibición de procesos de aterogénesis y reestenosis arterial ⁽¹⁷⁷⁾.

En modelos animales, se ha demostrado que al administrar inhibidores tanto del NO como de las prostaglandinas reducen aproximadamente el mismo porcentaje de la dilatación dependiente de flujo esto es de un 40% a un 45%; y que al administrarlos conjuntamente se elimina prácticamente por completo este tipo de dilatación ^(178 179).

Los efectos beneficiosos del ejercicio debido a la vasodilatación endotelio-dependiente tienen consecuencias para la estructura vascular así como para la reactividad

vascular. Además de sus efectos vasomotores, el NO ha demostrado su antagonismo a procesos arteroescleróticos, incluyendo la adherencia y quimiotaxis de los monocitos.

Mediante la inhibición de la síntesis de NO durante un periodo largo de tiempo en un modelo animal se induce un proceso inflamatorio en la pared vascular arterial coronaria manifestado por infiltración de monocitos y aumento en la expresión de proteínas de quimiotaxis para monocitos, que conllevan a la arteriosclerosis ⁽¹⁸⁰⁾.

Por otro lado, se ha demostrado que el factor de activación plaquetaria que aumenta la adherencia y la activación de los leucocitos, es inhibido por el NO, disminuyendo también por esta vía el proceso inflamatorio en la pared arterial ⁽¹⁸¹⁾. Además el estudio de Chen mostró una atenuación en la proliferación de músculo liso vascular y en la neoformación intimal al utiliza un inhibidor de la ECA que incrementa los niveles tisulares de GMPc ⁽¹⁸²⁾.

1.4.2.2. Selectina-E y ejercicio

Se ha postulado que la molécula de adhesión selectina E soluble (S-E) esta involucrada en la progresión de la arteriosclerosis ⁽¹⁸³⁾ estudios como el de Semaan muestra niveles elevados de S-E en pacientes con enfermedad arterial coronaria documentada, que en sujetos sin enfermedad arterial coronaria ⁽¹⁸⁴⁾.

Por otro lado los donadores de NO exógenos disminuyen significativamente los niveles plasmáticos de S-E, lo cual es parte del efecto anti-inflamatorio demostrado en pacientes con enfermedad vascular arteriosclerótica periférica ^(185 186).

1.4.2.3. Enzima conversora de angiotensina y ejercicio

Algunos estudios demuestran que los IECAS mejoran parámetros de disfunción endotelial, terapias convencionales de IECAS, estáticas, agentes sensibilizantes para la insulina y los estrógenos han demostrado mejorar la disfunción endotelial, a menudo independientemente de su efecto terapéutico original ⁽¹⁸⁷⁾.

En el trabajo de Fenster se refiere que el uso de IECAS aminora el stress oxidativo lo cual contribuye a una disminución en la respuesta inflamatoria vascular y a la progresión de la disfunción endotelial ^(188 189 190).

1.4.2.4. Factor Von Willebrand y ejercicio

Aunque se ha comunicado la ausencia de cambios significativos en los niveles de vWf al realizar ejercicio ⁽¹⁹¹⁾, Eriksson ⁽¹⁹²⁾ en su estudio refiere un pequeño incremento significativo en los niveles de vWf inmediatamente después de realizar ejercicio tanto en mujeres sin antecedentes de enfermedad cardiovascular como en mujeres con antecedente de infarto al miocardio. En los resultados de este estudio no se encontraron aumentos en la formación de trombina o fibrina, y sí un aumento en la concentración y en la actividad del tPA tanto para los grupos con antecedentes de enfermedad cardiovascular como para los que no lo tenían.

Kvervmo y sus colaboradores ⁽¹⁹³⁾ sugieren que el incremento en la activación del sistema de coagulación como respuesta al ejercicio se da solo en sujetos que no realizan ejercicio de forma habitual y que existen cambios adaptativos en el potencial fibrinolítico en sujetos que realizan ejercicio de forma habitual.

1.4.3. Marcadores de riesgo cardiovascular y ejercicio

1.4.3.1. Homocisteína y ejercicio

A pesar de que inmediatamente después de realizar ejercicio se incrementan los niveles de homocisteína, el realizar ejercicio de manera habitual no se asocia a un aumento en las concentraciones plasmáticas de homocisteína. Así lo refiere el estudio realizado por König en donde refiere que los atletas muestran una disminución en homocisteína después de realizar un periodo de 30 días de entrenamiento y que estos muestran menores incrementos de homocisteína inmediatamente después de realizar ejercicio ^(194 195).

1.4.3.2. Fibrinógeno y ejercicio

En pacientes con insuficiencia cardíaca y que no realizaban ejercicio de forma habitual, se ha referido un incremento en los niveles plasmáticos de fibrinógeno inmediatamente después de realizar ejercicio ⁽¹⁹⁶⁾, otros trabajos describen los cambios adaptativos, con un aumento en el sistema fibrinolítico de sujetos que realizan ejercicio de forma habitual ⁽¹⁹⁷⁾.

1.4.3.3. Proteína C reactiva y ejercicio

Realizar ejercicio de forma intensa induce una reacción inflamatoria, esto ha sido demostrado por el incremento de Proteína c reactiva y por otro lado existe además evidencia que este incremento muestra una disminución gradual al realizar ejercicio de manera habitual ⁽¹⁹⁸⁾. En otro estudio, después de un periodo de ejercicio habitual durante nueve meses se demostró disminución significativa de PCR comparado con un grupo control que no realizo ejercicio sugiriendo que el realizar ejercicio de manera habitual tienen un efecto sistémico anti-inflamatorio ^(199 200).

1.4.3.4. Lipoproteína (a) y ejercicio

Existen referencias contradictorias con respecto a la relación entre realizar ejercicio y las determinaciones de lipoproteína (a). En algunos estudios comparativos de sujetos que realizan ejercicio y sujetos sedentarios, no se observaron diferencias significativas en la determinación de lipoproteína (a) ^(201 202 203).

Mientras que, en otros estudios se observa determinaciones significativamente menores en sujetos que realizan ejercicio cuando se les compara con sedentarios ^(204 205).

2. OBJETIVOS

Como queda demostrado por lo anteriormente expuesto nos encontramos ante un tema muy importante en la prevención de los procesos cardiovasculares. La relación entre ejercicio y función endotelial es un tema en plena vigencia dada la escasez de estudios realizados hasta la fecha.

Por otra parte, existe una buena correlación entre la respuesta vasomotora endotelio dependiente de las coronarias y la vasodilatación mediada por flujo en la arteria braquial ⁽¹³⁴⁾, de manera que los datos obtenidos en la braquial podrían ser extrapolables a lo que ocurre en la coronaria, y por supuesto al sistema arterial sistémico.

Dadas las premisas anteriores nos planteamos los siguientes objetivos:

2.1. OBJETIVO GENERAL

Analizar los flujos arteriales en hiperemia reactiva de miembros superiores e inferiores, de grupos comparativos con distintos hábitos de ejercicio en relación con marcadores bioquímicos de disfunción endotelial y de riesgo cardiovascular.

Grupos analizados:

- Sujetos sanos sedentarios.
- Sujetos sanos que realizan ciclismo de alta competición como único deporte.
- Sujetos sanos que realizan remo de alta competición como único deporte.
- Sujetos sanos que realizaron ciclismo de alta competición como único deporte y que no han realizado deporte en por lo menos los últimos cinco años.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Definir grupos comparativos, sin diferencias significativas en sus datos físicos generales:

- Ciclistas y grupo sedentario control.
- Exciclistas y grupo sedentario control.
- Exciclistas y ciclistas.
- Remeros y grupo sedentario control.
- Remeros y ciclistas.

2. Analizar los marcadores de disfunción endotelial y de riesgo cardiovascular en los diferentes grupos analizados.
3. Analizar los parámetros de flujos arteriales mediante pletismografía en los diferentes grupos analizados.
4. Analizar los incrementos en flujo arterial debido a la hiperemia reactiva en los diferentes grupos analizados.
5. Correlacionar los resultados arteriales y los parámetros vasculares analizados.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Se trata de un estudio transversal realizado en varones deportistas de alto rendimiento, ciclistas y remeros en activo, así como exciclistas no activos, frente a grupos comparativos sedentarios de control.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité ético del hospital universitario “Marqués de Valdecilla”.

Previo a la inclusión de cada sujeto en el estudio se obtuvo un consentimiento informado firmado de todos los sujetos.

3.1. CRITERIOS DE SELECCIÓN

3.1.1. Criterios de inclusión

- Se incluyeron deportistas de alta competición en ciclismo y remo como grupos activos.
- Se incluyeron exdeportistas de alta competición en ciclismo.
- Se incluyeron sujetos sanos sedentarios.
- Todos los sujetos que se estudiaron, comprendieron los objetivos del estudio y aceptaron de modo voluntario su inclusión.
- Ninguno presentó alguno de los criterios de exclusión.

3.1.2. Criterios de exclusión

- Tabaquismo.
- Hipertensión arterial.
- Diabetes mellitas.
- Perfil lipídico alterado.
- Hepatopatías.
- Obesidad mórbida. Índice de masa corporal (IMC) Quetelet > 40.
- Enfermedades del tiroides.
- Enfermedades cardíacas.
- Procesos inflamatorios que puedan interferir con la obtención de datos y pruebas durante el estudio.

3.1.3. Salida del estudio

Aunque no se observó ninguna, se consideró la salida del estudio por alguna de las razones siguientes:

- Retirada voluntaria del sujeto en estudio.
- La clínica del sujeto aconsejara iniciar tratamiento médico.

3.2. GRUPOS DE ESTUDIO

Se analizaron 71 sujetos sanos divididos en los siguientes grupos:

Grupo control:

Se reclutaron 23 sujetos sedentarios, que al momento del estudio y en los últimos 5 años no realizaban más de 6 horas de ejercicio a la semana.

De este grupo, se seleccionaron los sujetos que no mostraron diferencia significativa en la edad, al compararlos con los otros grupos del estudio.

Grupos activos:

Ciclistas: Se reclutaron 22 ciclistas de alta competición (todos realizaban por lo menos 14 horas de entrenamiento a la semana, durante al menos los últimos 5 años). Ninguno de ellos realizaba otro tipo de deporte.

Remeros: Se reclutaron 16 remeros de alta competición (todos realizaban por lo menos 12 horas de entrenamiento a la semana, durante al menos los últimos 5 años). Ninguno de ellos realizaba otro tipo de deporte.

Grupos no activos:

Exciclistas: Se reclutaron 10 exciclistas de alta competición (ninguno de ellos realizaban más de 6 horas de entrenamiento a la semana, durante al menos los últimos 5 años).

Exremeros: No se lograron reclutar un número suficiente de sujetos para realizar estudios comparativos.

3.3. PARÁMETROS CLÍNICOS

3.3.1. Historia clínica

- Edad.
- Factores de riesgo cardiovascular: tabaquismo, hipertensión arterial, hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia, antecedentes de enfermedad cardiovascular o procesos que pudieran interferir con el estudio.
- Tratamiento médico farmacológico.

3.3.2. Exploración física

- Peso y Talla. Se calculó el IMC.
- Frecuencia cardiaca: se determinó por auscultación, con el paciente en decúbito se realizaron dos mediciones consecutivas con intervalos de 5 minutos.
- Se observó la presencia de pulsos periféricos en extremidades superiores e inferiores en todos los sujetos.
- Tensión arterial: se realizaron mediciones mediante esfigmomanómetro de mercurio. El valor final de la presión arterial se consideró la media de tres determinaciones consecutivas, con intervalos de 5 minutos entre cada una con el paciente en decúbito.
- Electrocardiograma. Se realizó electrocardiograma convencional de doce derivaciones, al inicio del estudio.

3.4. DETERMINACIONES ANALÍTICAS

3.4.1. Recogida de muestras, extracción y procesamiento

La muestra de sangre, para la determinación de parámetros bioquímicos rutinarios y específicos, se obtuvo en ayunas después de 30 minutos de reposo en decúbito supino, por punción de una vena antecubital.

Se extrajeron:

- 2 tubos de 10 ml de sangre en tubos de vacío siliconado con filtro de gel de sílice sin anticoagulante para la obtención de suero. Para determinación de los parámetros rutinarios de laboratorio, PCR y Selectina-E.
- 1 tubo de citrato sódico (0,11 mol/l). Para la determinación de fibrinógeno, factor Von Willebrand.
- 1 tubo con EDTA (sal dipotásica dihidratada) a temperatura ambiente para la realización de hemograma y recuento celular.
- Los tubos de vacío fueron tubos marca VACUTAINER (Becton Dickinson, Meylan, Cedex-France).
- Todas las muestras se procesaron de manera inmediata, en cualquier caso en menos de 1 hora transcurrida desde el momento de la recogida:

Procesamiento:

- Los tubos para suero se dejaron coagular durante 20-30 minutos y posteriormente se centrifugaron a 2000g a temperatura ambiente. El suero destinado a las determinaciones rutinarias se guardó a 4°C hasta su procesamiento el mismo día de la extracción. El resto del suero se repartió en tubos Eppendorf debidamente identificados y se congelaron a -80°C hasta su procesamiento definitivo.
- 1 tubo EDTA sin centrifugar (sangre total) se utilizó para hemograma y recuento celular en sangre total.
- El tubo con citrato sódico se centrifugó a 2000g y 4°C durante 10 minutos y el plasma obtenido se alicuotó en tubos Eppendorf debidamente identificados y se congelaron a -80°C hasta que se procesaron las determinaciones específicas.

3.4.2. Determinaciones plasmáticas rutinarias

Parámetros Bioquímicos en suero:

- Glucosa – Se utilizó la técnica colorimétrica (método glucosa oxidasa - peroxidasa, de la marca registrada GLU-CINET® de Bayer).

- Creatinina - Se utilizó la técnica cinética de Jaffé (basada en la reacción del ácido pícrico con la creatinina en medio alcalino); reactivos suministrados por Technicon de la marca registrada Omnipak®.
- Colesterol total - Se utilizó la técnica enzimática basada en las reacciones de la esterasa y la oxidasa del colesterol; reactivos suministrados por Technicon Omnipak®.
- HDL - Se utilizó el método directo con reactivos de Boehringer Mannheim automatizado.
- Triglicéridos - Se utilizó el análisis enzimático automatizado con glicerol-p-oxidasa y peroxidasa para la conversión del glicerol-3-fosfato (que proviene de la hidrólisis de los triglicéridos con lipasa a glicerol y la transformación de éste en glicerol-3P por la glicerol cinasa) en 4-p-benzoquinomino fenazona que se lee espectrofotométricamente a 505 nm.
- LDL - Se obtuvo por la fórmula de Friedewald:

$$[LDL = \text{Colesterol total} - HDL - (TG/5)].$$
- Alanina aminotransferasa (ALT) - Se utilizó la técnica enzimática basada en la reacción de la L-alanina con el alfa-ceto-glutarato para la producción de nicotinamida-adenina dinucleótido (NADH) y su lectura a 340 nm.

Todas las técnicas anteriores se determinaron de manera automatizada en un Technicom Dax (Technicom Instruments Corp, Tarrytown, NY. USA) usando reactivos administrados por Boehringer Mannheim (Mannheim, Alemania).

Parámetros Hematológicos:

- Recuento de hematíes.
- Recuento de leucocitos y fórmula leucocitaria.
- Hematocrito.
- Hemoglobina.
- Recuento de plaquetas.
- VSG: Estudio de la Velocidad de Sedimentación Globular.

Estas determinaciones se realizaron en un Coulter S+ Counter (Coulter, Hialeah, FL USA).

3.4.3. Descripción de las técnicas específicas

3.4.4. Conceptos generales

Todas las determinaciones se realizaron con pruebas cuantitativas inmuno-específicas que dependen por completo de la interacción primaria entre el antígeno (Ag) y el anticuerpo (Ac), como son las pruebas inmunoenzimáticas y el radioinmunoensayo (RIA).

Fundamentos generales de las pruebas inmunoenzimáticas:

El ELISA es una técnica inmunoenzimática no competitiva de formación de complejos antígeno-anticuerpo. En la aproximación más común a este método, un primer anticuerpo contra el antígeno a detectar se encuentra fijado en una fase sólida, tal como una microplaca de pocillos de plástico. Los estándares, de valor antigénico conocido, y muestras, de valor desconocido, son añadidos a la placa de tal manera que se produce la unión antígeno-anticuerpo. Después del lavado (para eliminar los restos proteicos no unidos al anticuerpo) un segundo anticuerpo, diferente al de la fase sólida, marcado con un enzima, se añade de manera que se forma un complejo “sándwich” (Anticuerpo de fase sólida - Antígeno - Anticuerpo ligado al enzima). El exceso de anticuerpo marcado con el enzima es eliminado en un segundo lavado tras el cual se añade el sustrato de la reacción enzimática. La enzima actúa sobre el sustrato (hidrolizándolo u oxidándolo) causando la formación de un color que es directamente proporcional a la cantidad de antígeno en la muestra y puede cuantificarse espectrofotométricamente. Como disponemos de una serie de muestras de valor conocido (estándares) que describen una recta, el valor de las muestras de valor desconocido se extrae de la extrapolación de las mismas sobre esta recta.

Fundamentos generales del radioinmunoensayo:

El Radioinmunoensayo es una técnica inmunoradiométrica competitiva. Este método cuantifica la reacción entre un antígeno y un solo anticuerpo. En el radioinmunoensayo el antígeno está marcado con un isótopo radiactivo. En un Radioinmunoensayo competitivo, todos los reactivos son mezclados simultáneamente.

El antígeno marcado radiactivamente (Ag*) y el antígeno no marcado compiten por su unión con el Ac. En tal sistema es muy deseable que la afinidad del anticuerpo por ambos antígenos sea la misma. Bajo estas condiciones, la probabilidad de unión del

anticuerpo al antígeno marcado es inversamente proporcional a la concentración de antígeno no marcado. Por lo tanto, el contaje de la unión Ag*-Ac es inversamente proporcional a la concentración de Ag no marcado.



La concentración de Ag* debe ser mayor que la de Ac y debe ser constante, al igual que la del Ac, de tal manera que la única incógnita es el Ag. Al aumentar la cantidad de Ag, la unión Ag*Ac decrece debido a que se ve desplazado por el Ag de los lugares de unión al anticuerpo.

Para cuantificar la cantidad de Ag el siguiente paso es separar Ag* de Ag*Ac mediante métodos físicos (generalmente aspiración, precipitación, o el uso de Ac de fase sólida). Después de la separación la radiación del Ag* ligado es cuantificada en un Contador Gamma.

De modo similar al enzimoimmunoensayo, además de las muestras de concentración de Ag desconocido en el ensayo se valoran una serie de muestras de concentración antigénica conocida para la preparación de una curva estándar. Por extrapolación con la curva estándar se puede calcular la concentración del ligando en la muestra problema, ya que existen numerosas transformaciones matemáticas tales como las funciones log o logit capaces de linealizar la relación.

3.4.5. Determinación de parámetros de disfunción endotelial

3.4.5.1. Determinación plasmática de enzima convertora de angiotensina

Se realizó mediante cuantificación cinética de la actividad del enzima a 340 nm en un HITACHI 704 (HITACHI, Tokio, Japón) con reactivos SIGMA (SIGMA DIAGNOSTICS, St. Louis, MO 63178, USA).

Características de la técnica:

Sensibilidad: 5 U/L.

Coefficiente de variación interensayo e intraensayo, 4 y 5,5% respectivamente.

3.4.5.2. Determinación de selectina E

La molécula de adhesión vascular soluble selectina E, se determinó mediante un ensayo comercial de ELISA (catálogo número BMS 205, Bender Medsystems, Viena, Austria) en una muestra de suero.

Reactivos y Preparación:

- Microplaca recubierta de Acs.
- Anticuerpo conjugado anti Selectina E (HRP-Conjugado): Dilución 1:100 con el Tampón justo antes de su uso, en tubo de plástico. A continuación se hizo una segunda dilución añadiendo 60 ml de la dilución anterior a 5940 ml de tampón.
- Estándar de Selectina E: Se reconstituyó añadiendo 500 ml de agua destilada y agitando hasta la perfecta homogenización.
- Solución de lavado: (PBS con Tween 20 al 1%): Se añadieron los 50 ml del contenido del vial a 950 ml de agua destilada.
- Diluyente de muestra: Es una matriz proteica tamponada similar a la de las muestras a estudio.
- Tampón: (PBS con Tween 20 al 1% y BSA al 10%). Se añadieron los 5 ml del contenido del vial a 95 ml de agua destilada.
- Solución Sustrato I: Tetrametilbenzadina.
- Solución Sustrato II: Peróxido de hidrógeno al 0.02%.

Desarrollo de la Técnica:

1. Se lavaron los pocillos de la placa 2 veces con 300 ml de Solución de Lavado, aspirando tras cada lavado. Después del último lavado se colocó la placa sobre papel de celulosa para eliminar cualquier resto líquido.
2. Se pipetearon 100 ml del diluyente de muestras a todos los pocillos en los que se realizó la curva de estandares por duplicado, excepto en los dos primeros.

3. En los dos primeros pocillos se añadieron 200 ml del estándar reconstituido en cada pocillo y se preparó el resto de la curva por diluciones sucesivas al $\frac{1}{2}$ de este primer estándar.
4. Se pipetearon 100 ml del diluyente de muestras en los pocillos destinados al blanco de muestra.
5. Se pipetearon 80 ml del Diluyente de muestras a todos los pocillos en los que iban las muestras.
6. Se pipetearon 20 ml de cada muestra en sus pocillos respectivos. Dilución 1:5.
7. Se preparó el HRP-Conjugado, se añadieron 50 ml del conjugado diluido a todos los pocillos incluyendo el blanco.
8. Se cubrió la placa y se incubó a 18-25°C durante 2 horas en agitación constante a 100 r.p.m.
9. Tras la incubación, se vaciaron los pocillos y se lavaron por un total de 3 veces con 300 ml de solución de lavado y se procedió igual al paso 1.
10. Se añadieron 100 ml de Sustrato ya preparado a todos los pocillos incluyendo el blanco.
11. Se incubó a 18-25°C de 5 a 20 minutos en agitación a 100 r.p.m. sin exponer a la luz directamente.
12. Se paró la reacción enzimática pipeteando 100 ml de Sulfúrico 4N a todos los pocillos.
13. La determinación de la absorbancia se realizó en un espectrofotómetro a 450 nm.
14. El resultado final se expresó en ng/ml. Estos valores finales se multiplicaron por 5, ya que las muestras han sido diluídas 1:5.

Características de la técnica:

- La sensibilidad es de 1.6 ng/ml.
- Especificidad: no existe reacción cruzada con IL-8, ICAM-1, TNF, CD8, IL-2, IL-6 ni Selectina L o P.
- Coeficiente de variación intraensayo: 3.7%.
- Coeficiente de variación interensayo: 4%.

3.4.5.3. Determinación del factor Von Willebrand

Fundamento del test:

La determinación se realizó mediante enzimoimmunoensayo comercializado (Asserachrom vWF, Diagnostica Stago, Boehringer Mannheim). En la primera inmunoreacción el anticuerpo específico contra el vWF, fijado sobre las tiras de microtitulación, fija el vWF contenido en la muestra. El factor posee varios determinantes antigénicos. Por lo tanto en la siguiente y segunda inmunoreacción con anticuerpos anti-vWF marcados con peroxidasa, se formaron complejos sándwich. La cantidad de estos complejos es la medida del contenido de vWF en la muestra. El conjugado POD no ligado se eliminó en el paso de lavado. Después de la adición de H₂O₂ y cromógeno (orto-fenilendiamina), la actividad de POD ligada es determinada fotométricamente.

Preparación de Reactivos:

- Reactivo 1: Tiras de microtitulación, recubiertas con anti vWF.
- Solución 2: Conjugado de anticuerpos-POD (Peroxidasa anti-vWF): Se disolvió el preparado de cada vial de conjugado con 8 ml de tampón.
- Solución 3: Sustrato: orto-fenilendiamina. Contando con protección de la luz, se disolvieron dos tabletas de 2 Mg⁺⁺ cada una de o-fenilendiamina con 8 ml de agua destilada y a continuación se añadieron 5 ml de agua oxigenada al 30%.
- Solución 4: Concentrado de tampón. Se diluyó el concentrado de tampón 1:10 con agua destilada.
- Solución 5: Concentrado de solución de lavado: cloruro sódico Tween 20. Se diluyó el concentrado de lavado 1:20 con agua destilada.
- Solución 6: Estándar vWF. Se disolvió el estándar vWF en 0,5 ml de agua destilada.
- Citrato sódico.
- Agua oxigenada al 30%
- Ácido sulfúrico (3 mol/l; 25%) .

Método de determinación:

1. Dilución de la muestra: se usó 1 parte de plasma citrado + 50 partes de solución tampón: 50 ml de muestra + 2500 ml de tampón.
2. Para la elaboración de la curva de calibración, se utilizó:
 - Dilución 1:50 del estándar reconstituido: 50 ml de estándar + 2500 ml de solución tampón.
 - Diluciones 1:100; 1:200; 1:400; 1:800; 1:1600 del estándar reconstituido.
3. Se pipetearon 200 ml de muestra diluida / estándar diluido en la microplaca. El blanco se construyó con 200 ml de tampón.
4. A continuación se incubaron las siguientes 2 horas a +15-25°C.
5. Después se aspiró y se lavó 5 veces con 250 ml de solución de lavado.
6. Se añadió la solución 2 (conjugado), 200 ml a toda la placa.
7. Se incubó 2 horas y a continuación se aspiró y se lavó 5 veces con 250 ml de solución de lavado.
8. Se incubó exactamente 3 minutos y se paró la reacción con 50 ml de ácido sulfúrico.
9. Se determinaron las absorbancias a una longitud de onda de 492 nm por construcción de la curva de calibración definitiva y extrapolación de resultados.

3.4.6. Determinación de parámetros de riesgo vascular

3.4.6.1. Determinación plasmática de homocisteína

Los niveles séricos de homocisteína se determinaron mediante HPLC (Cromatografía líquida de alta presión) según método de Bio-Rad Laboratories GmbH (Bio-Rad, Mündern, Alemania). La homocisteína se liberó de las proteínas mediante reducción y posteriormente se derivatizó formando un compuesto fluorescente que se inyectó en un sistema HPLC con flujo isocrático de Hewlett Packard serie 1100 (Alemania), con inyector automático y detector de fluorescencia Jasco FP-920 (Japón).

Coefficiente de variación intraensayo < 4%.

Coefficiente de variación interensayo < 6%.

3.4.6.2. Determinación plasmática de fibrinógeno

La determinación de fibrinógeno se realizó mediante cuantificación de la formación de fibrina en presencia de una concentración adecuada de trombina, mediante análisis automatizado en un Sysmex CA-6000 con reactivos DADE Thrombin Reagent (Dade Diagnostics S.L, Aguada, PR, USA).

La variabilidad intra e interensayo del método fue siempre menor del 10%.

3.4.6.3. Proteína c reactiva

La Proteína C reactiva se determinó mediante inmunonefelometría en un Nefelómetro Analizador de Behring II (Behring, Marburg, Alemania) con reactivos de Behring Diagnostics Inc (Somerville, NJ, USA). Para esta determinación se utilizó una versión ultrasensible de la técnica.

Se trata de un método de alta sensibilidad y especificidad, diseñado para medir concentraciones de PCR en un rango de entre 0,017 y 1100 mg/dl.

Coefficiente de variación intraensayo: 3,57%.

Coefficiente de variación interensayo: 3,4 %.

3.4.6.4. Lipoproteína (a)

La lipoproteína (a) se determinó mediante inmunonefelometría en un Nefelómetro Analizador de Behring II (Behring, Marburg, Alemania) con reactivos de Behring Diagnostics Inc (Somerville, NJ, USA).

Coefficiente de variación intraensayo: 3,1%.

Coefficiente de variación interensayo: 4,2%.

3.4.7. Determinación de parámetros de metabolismo oxidativo

3.4.7.1. LDL oxidada

Se realizó la determinación cuantitativa de autoanticuerpos humanos (IgG) anti LDL oxidada mediante enzimoimmunoensayo (Cat no. BI-20032, BIOMEDICA Gesellschaft mbH, BIOMEDICA GRUPPE).

Preparación de los reactivos:

Se utilizaron:

1. Una microplaca sin anticuerpos para la preparación de la dilución de las muestras.
2. Una microplaca recubierta con anticuerpos.
3. Buffer de ensayo: 100 ml.
4. Buffer de lavado: 50 ml concentrado x 10. Se añadieron a 450 ml de agua destilada para un volumen final de 500 ml.
5. Conjugado: 12 ml de antisuero de conejo anti-IgG humana.
6. 6 Estándares: 1200, 600, 300, 150, 75, y 37 mU/ml de oLAB in 0,5 ml de suero humano.
7. 2 controles.
8. Substrato: 12 ml de Tetrametilbenzadina.
9. Solución Stop: 7 ml de ácido sulfúrico diluido.

Protocolo:

1. Los estándares, controles y muestras se diluyeron al 1/50 como se indica a continuación:
 - Se pipetearon 200 µl de Buffer de ensayo en todos los pocillos de la placa 1 o “placa recubierta”.
 - Se pipetearon 200 µl de Buffer de ensayo en todos los pocillos de la placa 2 o “placa no recubierta”.
 - Se pipetearon 50 µl de cada estándar control o muestra en los pocillos respectivos de la placa 2 y agitar.
 - Utilizando una pipeta multicanal se transfirieron 20 µl de las muestras prediluidas a la placa 1 o “placa recubierta” en un tiempo menor a 15 minutos.
2. Se cubrió y se incubó a 37°C durante 90 minutos.
3. Se eliminó el contenido de la placa y se lavó 4 veces con 300 µl del Buffer de lavado.
4. Se añadieron 100 µl de conjugado a todos los pocillos.

5. Se cubrió la placa y se incubó a temperatura ambiente durante 30 minutos.
6. Se eliminó el contenido de la placa y se lavó 4 veces con 300 µl del Buffer de lavado.
7. Se añadieron 100 µl de substrato a todos los pocillos.
8. Se incubó a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 15'.
9. Se añadieron 50 µl de solución stop a todos los pocillos.
10. Se agitó suavemente y se leyó la absorbancia a 450 nm contra 690 o 620 de referencia.

Sensibilidad: 37 mU/ml.

Coefficiente de variación intraensayo: 3,95%.

Coefficiente de variación interensayo: 6,1%.

3.4.7.2. Estado antioxidante total

La concentración plasmática del estado antioxidante total (TAS) fue determinada mediante espectrofotometría en un aparato Hitachi 704 (Hitachi, Tokio, Japón) usando un kit Randox (Laboratorios Randox, Antrim, Inglaterra).

Los coeficientes de variación intra e interensayo fueron <5% y <10% respectivamente.

3.5. PROTOCOLO DE PLETISMOGRAFIA ARTERIAL

Los estudios de pletismografía se realizaron temprano por la mañana en una habitación con control de la temperatura entre 27 y 29°C.

Los sujetos se encontraban en ayuno de al menos 8 horas.

Antes de realizar ningún registro los sujetos en estudio permanecieron relajados durante un período de tiempo de 15 a 20 minutos en decúbito supino.

3.5.1. Estudio de la vasodilatación endotelio dependiente

Todos los sujetos se sometieron a dos estudios pletismográficos con técnica de hiperemia reactiva uno en la extremidad inferior y otro en la extremidad superior no dominante con medición del flujo por medio de banda elástica de mercurio en silastic.

El primer estudio se realizó en la extremidad inferior, elevada sobre una superficie plana a un ángulo de 30 grados para permitir un vaciamiento de las venas de forma

espontánea. El manguito de oclusión isquémica y venosa, se coloca en el tercio medio del muslo, y la banda elástica de mercurio en silastic en el tercio medio de pierna, según técnica descrita previamente ⁽¹⁷¹⁾.

El segundo estudio se realizó en la extremidad superior elevada sobre una superficie plana a un ángulo de 30 grados para permitir un vaciamiento de las venas de forma espontánea.

Se colocó el manguito neumático alrededor del brazo, midiendo la distensión basal del antebrazo, mediante la técnica ya descrita ⁽¹⁷¹⁾.

En ambos estudios se midieron cinco a diez ciclos, utilizando la banda elástica de mercurio en silastic y empleando un amplificador Hokanson. El inflado intermitente del manguito a 40 mmHg se realizó en periodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado.

A continuación, se produjo isquemia de la extremidad en estudio mediante el inflado del manguito a una presión 50 mmHg superior a la tensión sistólica basal del sujeto en estudio, durante cinco minutos, desinflando el manguito al término de este tiempo. Cambiando inmediatamente al compresor automático y comenzando las oclusiones intermitentes a 40 mmHg en periodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado hasta completar 10 minutos de registro.

Se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Flujo basal: al promediar tres registros sin artefactos de flujo basal.
- Flujo máximo: no tomando en cuenta el primer registro postisquemia para evitar el fenómeno de aumento ⁽²⁰⁶⁾. Se analizaron los siguientes tres registros en hiperemia.
- Incremento de flujo: se obtuvo dividiendo el flujo arterial máximo de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

El flujo arterial se expresa en mililitros por cien mililitros por minuto ($\text{ml}/\text{min} \times 100$ ml), esto es mililitros de flujo arterial que ingresan por cada 100 ml de tejido del segmento de la extremidad en estudio, mediante la técnica descrita por Whitney ⁽¹⁷⁰⁾.

El incremento de flujo se obtuvo dividiendo el flujo arterial en hiperemia reactiva de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

3.5.2. Estudio de la vasodilatación endotelio independiente

Todos los sujetos se sometieron a un estudio en la extremidad superior no dominante con medición del flujo por medio de banda elástica de mercurio en silastic, empleamos la nitroglicerina sublingual como agente exógeno de NO. La nitroglicerina es un donante exógeno de NO la cual condiciona vasodilatación independiente de la liberación endotelial de NO.

Se obtuvo primero un registro basal tomando la media de 3 registros con un inflado intermitente del manguito a 40 mmHg en períodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado.

Se administraron dosis de 400 microgramos de nitroglicerina por vía sublingual continuando las mediciones, obteniendo un registro de 10 minutos de duración, inflando el manguito a 40 mmHg durante 10 segundos y desinflando durante 10 segundos.

Se obtuvieron los siguientes parámetros:

- Flujo basal: promediando tres registros sin artefactos de flujo basal.
- Flujo máximo: analizando los tres registros máximos posteriores a la administración de la nitroglicerina.
- Incremento de flujo por la nitroglicerina: se obtuvo dividiendo el flujo arterial máximo de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

3.6. ANALISIS ESTADÍSTICO

Todos los datos se incluyeron en una base estadística, utilizando el SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA) software, versión 12.0.

En primer lugar se sometió a cada variable al test de Kolmogorov-Smirnof para la evaluación de la distribución, normal o no, de las mismas.

Todos los datos se expresaron como la media +/- la desviación estándar, pero en aquellas variables cuya distribución resultó no paramétrica se añadió, además, la mediana y el rango de los datos.

Para analizar la existencia de diferencias entre 2 grupos se utilizó la t-Student para datos independientes en el caso de variables paramétricas, y el test de Mann-Whitney en el caso de variables no paramétricas.

Para analizar la existencia de diferencias entre los grupos de deportistas en activo (ciclistas y remeros) y el grupo sedentario control, y teniendo en cuenta que el análisis se realiza entre 3 grupos, se utilizó un ANOVA. Cuando se objetivaron diferencias entre los diferentes grupos se aplicó seguidamente un test de Tukey para conocer entre que grupos concretos se dan las diferencias encontradas.

Debido a las diferencias significativas entre edad e IMC para algunas comparaciones, se realizó el análisis ajustado por ambos parámetros, evitando así la posible influencia de dichos factores en los resultados. Si los ajustes producen cambios en los hallazgos previamente encontrados se muestra también la media \pm ESM (error estándar de la media) de la variable ajustada.

Para el análisis de correlaciones entre 2 variables se utilizó el test de la r de Pearson para las variables de distribución paramétrica y el test de la s de Spearman para las variables no paramétricas.

Cuando se analizaron asociaciones entre 1 variable (dependiente) y un número de variables superior a 2 (variables independientes) se utilizó un Análisis múltiple de regresión lineal (Selección Stepwise) tras transformación logarítmica de las variables de distribución no paramétrica.

Una $p < 0.05$ se considera significativa para rechazar la hipótesis nula.

4. RESULTADOS

Los resultados se expresan como media \pm desviación estándar en el caso de variables con distribución paramétrica, y en el caso de variables con distribución no paramétrica se añade mediana y (rango).

4.1. DATOS FÍSICOS GENERALES

4.1.1. Ciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.1 se muestran los datos físicos generales de los grupos comparativos de ciclistas y su grupo sedentario control.

Tabla 4.1 Datos físicos generales de los grupos ciclistas y sedentario.

	Ciclistas n=18	Sedentario n=14	P
Edad (años)	20 \pm 3	23 \pm 2	0,083
IMC (Kg/m ²)	19,66 \pm 1,03	21,19 \pm 3,07	0,123
FC inicial (lpm)	54 \pm 7	68 \pm 6	< 0,001
FC final (lpm)	55 \pm 7	66 \pm 6	< 0,001
TA sistólica inicial (mmHg)	119,6 \pm 9	116,6 \pm 7,7	0,383
TA diastólica inicial (mmHg)	62,8 \pm 8	67,0 \pm 6,8	0,166
TA sistólica final (mmHg)	116,4 \pm 7,4	112,5 \pm 8,3	0,218
TA diastólica final (mmHg)	67,5 \pm 9,1	66,6 \pm 6,5	0,795
Entrenamiento (hrs/sem)	23,72 \pm 5,52	1,92 \pm 1,59	< 0,001
Años de entrenamiento (años)	7,72 \pm 2,51	2,35 \pm 1,69	< 0,001

FC = Frecuencia cardiaca, lpm = latidos por minuto

Antes e inmediatamente después de realizar el estudio de pletismografía, el grupo de ciclistas mostró una frecuencia cardiaca inicial y final significativamente menor que el grupo sedentario. Como era de esperar, existen diferencias significativas en las horas y años de entrenamiento. Llama la atención que no hay diferencias en la tensión arterial entre ambos grupos.

4.1.2. Exciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.2 se muestran los datos físicos generales de los grupos comparativos de exciclistas y su grupo sedentario control.

Tabla 4.2 Datos físicos generales de los grupos de exciclistas y sedentario.

	Exciclistas n=10	Sedentario n=12	P
Edad (años)	35 ± 3	32 ± 8	0,336
IMC (Kg/m ²)	24,17 ± 2,69	23,89 ± 3,36	0,847
FC inicial (lpm)	54 ± 5	61 ± 7	0,041
FC final (lpm)	55 ± 6	60 ± 4	0,072
TA sistólica inicial (mmHg)	110,0 ± 4	111,8 ± 5,3	0,408
TA diastólica inicial (mmHg)	68,5 ± 6,2	67,5 ± 5,3	0,724
TA sistólica final (mmHg)	107 ± 5,3	98,2 ± 35,5	0,451
TA diastólica final (mmHg)	69,5 ± 6,8	65,62 ± 4,9	0,199
Entrenamiento (hrs/sem)	2,60 (1,95)	2,66 (1,55)	0,930
Años de entrenamiento (años)	4,80 ± 3,55	2,91 ± 2,74	0,176

FC = Frecuencia cardiaca, lpm = latidos por minuto

El grupo de exciclistas mostró una frecuencia cardiaca inicial significativamente menor que el grupo sedentario control; por lo demás no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos de estudio.

4.1.3. Exciclistas y ciclistas

En la tabla 4.3 se muestran los datos físicos generales de los grupos comparativos de exciclistas y ciclistas.

Se observan una edad y un índice de masa corporal significativamente mayores del grupo de exciclistas con relación a los ciclistas activos.

Aunque en el análisis simple se observaron diferencias significativas, al ajustar por índice de masa corporal y edad las diferencias significativas se pierden en la tensión arterial sistólica inicial ($109,2 \pm 4,35$ y $120,1 \pm 6,28$ respectivamente; $p=0,135$) y tensión arterial sistólica final ($111,7 \pm 3,33$ y $113,03 \pm 2,52$ respectivamente; $p=0,81$).

Otras diferencias significativas entre ambos grupos fueron las horas de entrenamiento y los años de entrenamiento.

Tabla 4.3 Datos físicos generales de los grupos de exciclistas y ciclistas.

	Exciclistas n =10	Ciclistas n =22	p
Edad (años)	35 ± 3 35 (28 – 41)	20 ± 3 20 (18 – 34)	< 0,001
IMC (Kg/m ²)	24,17 ± 2,69	19,66 ± 1,03	< 0,001
FC inicial (lpm)	54 ± 5	54 ± 7	0,80
FC final (lpm)	55 ± 6	55 ± 7	1,00
TA sistólica inicial (mmHg)	110 ± 4	119,6 ± 9	0,005
TA diastólica inicial (mmHg)	68,5 ± 6,2	62,8 ± 8	0,077
TA sistólica final (mmHg)	107 ± 5,3	116,4 ± 7,4	0,003
TA diastólica final (mmHg)	69,5 ± 6,8	67,5 ± 9,1	0,566
Entrenamiento (hrs/sem)	2,60 (1,95)	22,81 (5,59)	< 0,001
Años de entrenamiento (años)	4,80 ± 3,55	7,68 ± 2,86	0,021

FC = Frecuencia cardiaca, lpm = latidos por minuto

4.1.4. Remeros y grupo sedentario control

En la tabla 4.4 se muestran los datos físicos generales de los grupos comparativos de remeros y su grupo sedentario control.

Tabla 4.4 Datos físicos generales de los grupos de remeros y sedentario.

	Remeros n =16	Sedentario n =20	p
Edad (años)	25 ± 6 25 (18 – 40)	27 ± 8 23 (20 – 48)	0,497
IMC (Kg/m ²)	21,85 ± 1,56	20,99 ± 2,33	0,263
FC inicial (lpm)	56 ± 11	67 ± 7	0,008
FC final (lpm)	56 ± 12	65 ± 6	0,029
TA sistólica inicial (mmHg)	116,7 ± 10,3	116 ± 7,1	0,833
TA diastólica inicial (mmHg)	65,3 ± 9,2	67,1 ± 6,4	0,559
TA sistólica final (mmHg)	113,5 ± 8,1	105,4 ± 28,1	0,309
TA diastólica final (mmHg)	61,4 ± 9,6	66 ± 6,2	0,144
Entrenamiento (hrs/sem)	21,85 (0,53) 22 (20-22)	2,05 (1,19) 2 (1 – 4)	< 0,001
Años de entrenamiento (años)	4,92 ± 2,49	2,80 ± 2,41	0,018

FC = Frecuencia cardiaca, lpm = latidos por minuto

Antes y después de realizar el estudio de pletismografía, el grupo de remeros mostró una frecuencia cardíaca inicial y final significativamente menores que el grupo sedentario control. Como es de esperar el grupo de remeros muestra una media de horas de entrenamiento y años de entrenamiento significativamente mayores al grupo sedentario control. No se observaron diferencias significativas en las cifras de tensión arterial, edad o índice de masa corporal.

4.1.5. Remeros y ciclistas

En la tabla 4.5 se muestran los datos físicos generales de los grupos comparativos de remeros y ciclistas.

Tabla 4.5 Datos físicos generales de los grupos de remeros y ciclistas.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	P
Edad (años)	25 ± 6	21 ± 3	0,009
IMC (Kg/m ²)	21,85 ± 1,56	19,66 ± 1,03	< 0,001
FC inicial (lpm)	56 ± 11	54 ± 7	0,498
FC final (lpm)	56 ± 12	55 ± 7	0,649
TA sistólica inicial (mmHg)	116,7 ± 10,3	119,6 ± 9	0,443
TA diastólica inicial (mmHg)	65,35 ± 9,2	62,8 ± 8	0,453
TA sistólica final (mmHg)	113,57 ± 8,1	116,4 ± 7,4	0,343
TA diastólica final (mmHg)	61,4 ± 9,6	67,5 ± 9,1	0,100
Entrenamiento (hrs/sem)	21,85 ± 0,53	25,14 ± 5,08	0,031
Años de entrenamiento (años)	4,92 ± 2,49	7,78 ± 1,80	0,002

FC = Frecuencia cardíaca, lpm = latidos por minuto

Los remeros son de mayor edad y con una superficie corporal mayor. Los ciclistas tienen más horas de entrenamiento a la semana y más años de entrenamiento físico. No hay diferencias significativas en el comportamiento de la tensión arterial ni frecuencia cardíaca.

Al ajustar por edad e IMC se observó una diferencia significativa en la tensión arterial sistólica inicial, (113,4 ± 2,87 y 122,9 ± 2,87 respectivamente; p = 0,049).

No existen más cambios en los hallazgos encontrados al ajustar por edad e IMC.

4.1.6. Grupos activos y grupo sedentario control

En la tabla 4.6 se muestran los datos físicos generales de los grupos activos y grupo sedentario control.

Tabla 4.6 Datos físicos generales de los grupos de remeros, ciclistas y sedentario.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	Sedentario n=20	p
Edad (años)	25 ± 6 25 (18 – 40)	21 ± 3 20 (19 - 34)	27 ± 8 23 (20 - 48)	0,037 C-S = 0,03
IMC (Kg/m ²)	21,85 ± 1,56	19,66 ± 1,03	20,99 ± 2,33	0,007 R-C = 0,005
FC inicial (lpm)	56 ± 11	54 ± 7	67 ± 7	0,001 R-S = 0,009 C-S = 0,001
FC final (lpm)	56 ± 12	55 ± 7	65 ± 6	0,008 R-S = 0,037 C-S = 0,01
TA sistólica inicial (mmHg)	116,7 ± 10,3 117,5 (105-130)	119,6 ± 9 120 (110-145)	116 ± 7,1 120 (100-130)	0,54
TA diastólica inicial (mmHg)	65,3 ± 9,2 70 (60-80)	62,8 ± 8 60 (50-80)	67,1 ± 6,4 65 (50-80)	0,372
TA sistólica final (mmHg)	113,5 ± 8,1 112,5 (100-130)	116,4 ± 7,4 117,5 (100-130)	105,4 ± 28,1 112,5 (110-120)	0,238
TA diastólica final (mmHg)	61,4 ± 9,6 60 (50 – 80)	67,5 ± 9,1 67,5 (50 – 80)	66 ± 6,2 67,5 (60 – 80)	0,156
Horas de entrenamiento (hrs/sem)	21,85 ± 0,53 22 (20 – 22)	25,14 ± 5,08 25,5 (14 – 35)	2,05 ± 1,19 2 (1 - 4)	< 0,001 R-C = 0,011 R-S < 0,001 C-S < 0,001
Años de entrenamiento (años)	4,92 ± 2,49	7,78 ± 1,80	2,80 ± 2,41	< 0,001 R-C = 0,005 R-S = 0,027 C-S < 0,001

R-C = Remeros y ciclistas, R-S = Remeros y sedentario, C-S = Ciclistas y sedentario
FC = Frecuencia cardiaca, lpm = latidos por minuto

Para valorar las diferencias existentes en la edad para los diferentes grupos y para valorar los cambios existentes entre los grupos activos y el grupo sedentario, se realizó un ANOVA, test estadístico exigido para múltiples comparaciones.

El grupo sedentario muestra una frecuencia cardíaca más alta que los grupos activos entrenados, independientemente de que sean ciclistas (ejercicio con predominio dinámico), que los remeros (esfuerzos más isométricos). Sin embargo el índice de masa corporal es tan alto en los remeros como en los sedentarios, siendo inferior en los ciclistas, probablemente porque estos últimos entrenan más horas y más años; y quizás también por que los ciclistas tienen un mayor consumo energético comparado con los remeros.

Las presiones arteriales no se ven modificadas significativamente por el hecho de realizar ejercicio activo, independientemente del tipo de ejercicio.

Al no tratarse exactamente de los mismos grupos comparativos previamente analizados en cuanto a número de sujetos, encontramos diferencias significativas en la edad entre ciclistas y grupo sedentario control, no encontrándose sin embargo diferencias entre remeros y grupo sedentario. Por lo demás, las diferencias observadas con el test ANOVA, son las observadas en las comparaciones emparejadas entre los diferentes grupos.

No se observan cambios en los hallazgos encontrados al realizar análisis ajustado.

4.2. DATOS BIOQUÍMICOS RUTINARIOS

4.2.1. Ciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.7 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de ciclistas y grupo sedentario control.

El grupo de ciclistas activos muestra un valor medio de creatinina significativamente menor al valor medio del grupo sedentario control. Así mismo, el grupo de ciclistas activos muestra un valor medio de colesterol total y LDL colesterol significativamente menor al valor medio del grupo sedentario control.

No se observaron otras diferencias significativas en el resto de los parámetros, entre ambos grupos.

Tabla 4.7 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de ciclistas y sedentario.

	Ciclistas n=18	Sedentario n=14	P
Glucosa (mg/dl)	80 ± 10	76 ± 5	0,320
Creatinina (mg/dl)	1,05 ± 0,12	1,14 ± 0,06	0,023
Colesterol total (mg/dl)	159 ± 26	180 ± 25	0,042
HDL Colesterol (mg/dl)	48 ± 12	48 ± 13	0,922
Triglicéridos (mg/dl)	71 ± 39	60 ± 16	0,378
LDL Colesterol (mg/dl)	96 ± 19	120 ± 23	0,011
ALT (U/L)	27,07 ± 12,92	26,16 ± 13,25	0,862
Leucocitos (cels x 10 ³ x mm ³)	6 ± 1	6 ± 2	0,69
Plaquetas (u x 10 ³ x mm ³)	211 ± 39	230 ± 34	0,22

4.2.2. Exciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.8 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de exciclistas y grupo sedentario control.

Tabla 4.8 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de exciclistas y sedentario.

	Exciclistas n=10	Sedentario n=12	P
Glucosa (mg/dl)	83 ± 3	78 ± 4	0,025
Creatinina (mg/dl)	1,09 ± 0,11	1,18 ± 0,083	0,069
Colesterol total (mg/dl)	189 ± 38	183 ± 20	0,732
HDL Colesterol (mg/dl)	48 ± 8	47 ± 10	0,789
Triglicéridos (mg/dl)	56 ± 29	70 ± 39	0,439
LDL Colesterol (mg/dl)	132 ± 31	122 ± 18	0,470
ALT (U/L)	22,10 ± 7,03	29,62 ± 16,07	0,248
Leucocitos (cels x 10 ³ x mm ³)	4 ± 0,8	5 ± 0,6	0,131
Plaquetas (u x 10 ³ x mm ³)	211 ± 33	215 ± 40	0,839

El grupo de exciclistas activos muestra un valor de glucosa significativamente mayor al valor del grupo sedentario control, aunque dentro siempre de límites de normalidad. No se observaron otras diferencias significativas entre ambos grupos.

4.2.3. Exciclistas y ciclistas

En la tabla 4.9 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de exciclistas y ciclistas.

Aunque en el análisis simple se observaron diferencias, al ajustar por edad y peso, se pierden la significación en los valores de colesterol total ($191 \pm 9,6$ y $182 \pm 9,1$ respectivamente; $p = 0,46$) y de LDL colesterol ($135 \pm 8,6$ y $120 \pm 7,7$; $p = 0,24$).

El grupo de exciclistas activos muestra un valor medio de leucocitos significativamente menor al valor medio del grupo de ciclistas.

No se observaron otras diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 4.9 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de exciclistas y ciclistas.

	Exciclistas n=10	Ciclistas n=22	P
Glucosa (mg/dl)	83 ± 3	80 ± 10	0,32
Creatinina (mg/dl)	$1,09 \pm 0,11$	$1,05 \pm 0,12$	0,44
Colesterol total (mg/dl)	189 ± 38	159 ± 26	0,031
HDL Colesterol (mg/dl)	48 ± 8	48 ± 12	0,964
Triglicéridos (mg/dl)	56 ± 29	71 ± 39	0,357
LDL Colesterol (mg/dl)	132 ± 31	96 ± 19	0,003
ALT (U/L)	$22,10 \pm 7,03$	$27,07 \pm 12,92$	0,28
Leucocitos (cels x 10^3 x mm^3)	$4 \pm 0,8$	6 ± 1	0,015
Plaquetas (u x 10^3 x mm^3)	211 ± 33	211 ± 39	0,997

4.2.4. Remeros y grupo sedentario control

En la tabla 4.10 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de remeros y grupo sedentario control.

El grupo de remeros muestra valores de colesterol total y LDL colesterol significativamente menores al grupo sedentario.

No se observaron otras diferencias significativas entre ambos grupos.

Tabla 4.10 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de remeros y sedentario.

	Remeros n=16	Sedentario n=20	P
Glucosa (mg/dl)	77 ± 5	78 ± 5	0,671
Creatinina (mg/dl)	1,16 ± 0,11	1,14 ± 0,07	0,431
Colesterol total (mg/dl)	159 ± 19	181 ± 22	0,011
HDL Colesterol (mg/dl)	54 ± 14	46 ± 13	0,168
Triglicéridos (mg/dl)	57 ± 25	67 ± 31	0,385
LDL Colesterol (mg/dl)	95 ± 17	121 ± 21	0,003
ALT (U/L)	27,85 ± 7,16	27,71 ± 14,26	0,974
Leucocitos (cels x 10 ³ x mm ³)	6 ± 2	5 ± 1	0,332
Plaquetas (u x 10 ³ x mm ³)	213 ± 32	228 ± 31	0,235

4.2.5. Remeros y ciclistas

En la tabla 4.11 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de remeros y ciclistas.

Tabla 4.11 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de remeros y ciclistas.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	P
Glucosa (mg/dl)	77 ± 5	80 ± 10	0,398
Creatinina (mg/dl)	1,16 ± 0,11	1,05 ± 0,12	0,014
Colesterol total (mg/dl)	159 ± 19	159 ± 26	0,929
HDL Colesterol (mg/dl)	54 ± 14	48 ± 12	0,219
Triglicéridos (mg/dl)	57 ± 25	71 ± 39	0,287
LDL Colesterol (mg/dl)	95 ± 17	96 ± 19	0,856
ALT (U/L)	27,85 ± 7,16	27,07 ± 12,92	0,844
Leucocitos (cels x 10 ³ x mm ³)	5 ± 1	6 ± 1	0,340
Plaquetas (u x 10 ³ x mm ³)	213 ± 32	211 ± 39	0,886

Aunque en el análisis simple se observa un valor de creatinina significativamente mayor en los remeros comparados con los ciclistas, al ajustar por edad y peso se pierde la significación, (1,14 ± 0,041 y 1,07 ± 0,041; p = 0,27).

4.2.6. Grupos activos y grupo sedentario control

En la tabla 4.12 se muestran los datos bioquímicos rutinarios de los grupos comparativos de remeros, ciclistas y grupo sedentario control.

Aunque en el análisis simple se observa una diferencia significativa para la creatinina, al ajustar por índice de masa corporal se pierden la significación del valor de creatinina ($1,14 \pm 0,03$, $1,07 \pm 0,03$ y $1,14 \pm 0,03$ respectivamente; $p = 0,22$).

Tabla 4.12 Datos bioquímicos rutinarios de los grupos de remeros, ciclistas y sedentario.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	Sedentario n=20	p
Glucosa (mg/dl)	77 ± 5	80 ± 10	78 ± 5	0,607
Creatinina (mg/dl)	1,16 ± 0,11	1,05 ± 0,12	1,14 ± 0,07	0,015 R-C = 0,014
Colesterol total (mg/dl)	159 ± 19	159 ± 26	181 ± 22	0,019 R-S = 0,041 C-S = 0,033
HDL Colesterol (mg/dl)	54 ± 14	48 ± 12	46 ± 13	0,294
Triglicéridos (mg/dl)	57 ± 25	71 ± 39	67,14 ± 31	0,530
LDL Colesterol (mg/dl)	95 ± 17	96 ± 19	121 ± 21	< 0,001 R-S = 0,006 C-S = 0,007
ALT (mg/dl)	27,85 ± 7,16	27,07 ± 12,92	27,71 ± 14,26	0,983
Leucocitos (cels x 10 ³ x mm ³)	5 ± 1	6 ± 1	6 ± 2	0,551
Plaquetas (u x 10 ³ x mm ³)	213 ± 32	211 ± 39	228 ± 31	0,402

R-C = Remeros y ciclistas, R-S = Remeros y sedentario, C-S = Ciclistas y sedentario

Después de realizar el ajuste por índice de masa corporal se observan las mismas diferencias. Además, todas las diferencias significativas observadas en las comparaciones pareadas de los diferentes grupos se muestran también en el análisis mediante ANOVA.

4.3. PARÁMETROS BIOQUÍMICOS ESPECÍFICOS

4.3.1. Ciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.13 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de ciclistas y grupo sedentario control.

Tabla 4.13 Parámetros bioquímicos específicos de los grupos de ciclistas y sedentario.

	Ciclistas n=18	Sedentario n=14	P
Parámetros de Disfunción Endotelial			
ECA (U/L)	38,57 ± 13,01	32,83 ± 8,88	0,209
Selectina (ng/ml)	40,91 ± 20,29	37,25 ± 19,43	0,618
Von Willebrand (%)	138 ± 23	124 ± 22	0,104
Parámetros de Riesgo Vascular			
Homocisteína (µmol/l)	10,06 ± 1,89	12,19 ± 1,54	0,007
Fibrinógeno (mg/dl)	221 ± 36	276 ± 80	0,19
PCR (mg/dl)	0,09 ± 0,13 0,03 (0,01 – 0,5)	0,29 ± 0,63 0,07 (0,01 – 2,36)	0,278
Lipoproteína (a) (mg/dl)	12,77 ± 8,33 10 (10 – 35)	16,36 ± 13,99 10 (10 – 56)	0,508
Metabolismo Oxidativo			
TAS (amol/ml)	1007 ± 144	1022 ± 127	0,772
LDL oxidada (mU/ml)	854 ± 712	1357 ± 861	0,080

El nivel plasmático medio de homocisteína es significativamente mayor en el grupo sedentario con relación al grupo de ciclistas. La LDL-oxidada, presenta una clara tendencia a estar mas elevada en el grupo sedentario.

4.3.2. Exciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.14 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de exciclistas y sedentario control.

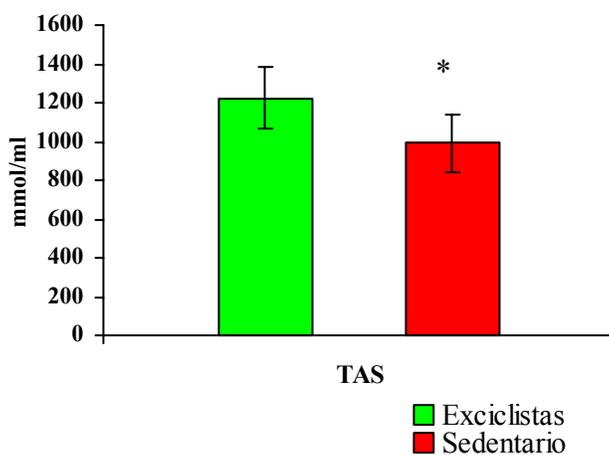
Se observa un valor medio de TAS significativamente menor en el grupo sedentario control con relación al grupo de exciclistas (Figura 6). El grupo de ex ciclistas muestra tendencia a presentar niveles más elevados de ECA.

Por diversas causas, entre ellas la falta de disponibilidad de reactivos, no fue posible realizar estas determinaciones a todos los sujetos de estudio de cada grupo.

Tabla 4.14 Datos bioquímicos específicos de los grupos de exciclistas y sedentario.

	Exciclistas n=10	Sedentario n=12	P
Parámetros de Disfunción Endotelial			
ECA (U/L)	45,60 ± 21,25	32,87 ± 13,45	0,161
Parámetros de Riesgo Vascular			
Homocisteína (µmol/l)	12,80 ± 2,77	12,86 ± 3,98	0,969
Fibrinógeno (mg/dl)	215 ± 22	233 ± 28	0,177
PCR (mg/dl)	0,042 ± 0,019 0,04 (0,01 – 0,07)	0,050 ± 0,022 0,05 (0,01 – 0,08)	0,515
Lipoproteína (a) (mg/dl)	47,66 ± 43,84 32,0 (10 – 109)	15,71 ± 10,79 10,0 (10 – 38)	0,142
Metabolismo Oxidativo			
TAS (mmol/ml)	1223 ± 159	992 ± 146	0,002
LDL oxidada (mU/ml)	590 ± 570	890 ± 808	0,337

Figura 6. TAS en los grupos exciclistas y sedentario (* p=0,002)



4.3.3. Exciclistas y ciclistas

En la tabla 4.15 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de exciclistas y ciclistas.

El grupo de ciclistas muestra valores de homocisteína significativamente menor al valor medio del grupo de exciclistas las cuales se conservan al ajustar por edad. ($9,18 \pm 1,08$ y $13,86 \pm 1,25$ respectivamente; $p = 0,039$).

Se observa que los valores de lipoproteína (a) de los ciclistas son significativamente menores al grupo de exciclistas, perdiendo la significación después de ajustar por edad. ($5,48 \pm 16,57$ y $54,96 \pm 16,57$; $p = 0,114$), probablemente por el reducido número de sujetos de estudio.

Tabla 4.15 Datos bioquímicos específicos de los grupos de exciclistas y ciclistas.

	Exciclistas n=10	Ciclistas n=22	P
Parámetros de Disfunción Endotelial			
ECA (U/L)	$45,60 \pm 21,25$	$38,57 \pm 13,01$	0,325
Parámetros de Riesgo Vascular			
Homocisteína ($\mu\text{mol/l}$)	$12,80 \pm 2,77$	$10,06 \pm 1,89$	0,013
Fibrinógeno (mg/dl)	215 ± 22	221 ± 36	0,679
PCR (mg/dl)	$0,042 \pm 0,019$ $0,04 (0,01 - 0,07)$	$0,104 \pm 0,152$ $0,035 (0,01 - 0,5)$	0,952
Lipoproteína (a) (mg/dl)	$47,66 \pm 43,84$ $32 (10 - 109)$	$12,77 \pm 8,33$ $10 (10 - 35)$	0,04
Metabolismo Oxidativo			
TAS (mmol/ml)	1223 ± 159	1017 ± 156	0,002
LDL oxidada (mU/ml)	590 ± 570	873 ± 678	0,261

Aunque en el análisis simple también se observó una diferencia significativa en el valor de TAS, al ajustar por edad se pierde la significación encontrada (1177 ± 91 y 1032 ± 56 respectivamente; $p = 0,293$), aunque conserva una clara tendencia.

Además de los cambios significativos mostrados, en el grupo de exciclistas se muestra una clara tendencia a presentar niveles más elevados de ECA.

4.3.4. Remeros y grupo sedentario control

En la tabla 4.16 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de remeros y sedentario control.

Tabla 4.16 Datos bioquímicos específicos de los grupos de remeros y sedentario.

	Remeros n=16	Sedentario n=20	p
Parámetros de Disfunción Endotelial			
ECA (U/L)	39,71 ± 11,93	31,42 ± 9,29	0,051
Selectina (ng/ml)	37,25 ± 15,54	35,26 ± 18,81	0,750
Von Willebrand (%)	135,73 ± 24,88	125,44 ± 21,03	0,238
Parámetros de Riesgo Vascular			
Homocisteína (μmol/l)	10,74 ± 2,42	12,06 ± 2,08	0,134
Fibrinógeno (mg/dl)	229,14 ± 42,48	266,92 ± 78,53	0,125
Lipoproteína (a) (mg/dl)	20,53 ± 15,10 14 (10 – 66)	14,83 ± 13,41 10 (10 – 56)	0,316

Aunque estrictamente no existen diferencias significativas entre ambos grupos, sí se observa una clara tendencia en el grupo de remeros a tener niveles elevados de ECA.

4.3.5. Remeros y ciclistas

En la tabla 4.17 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de remeros y ciclistas.

Tabla 4.17 Datos bioquímicos específicos de los grupos de remeros y ciclistas.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	p
Parámetros de Disfunción Endotelial			
ECA (U/L)	39,71 ± 11,93	38,57 ± 13,01	0,811
Selectina (ng/ml)	37,25 ± 15,54	42,92 ± 21,0	0,404
Von Willebrand (%)	135 ± 24	140 ± 23	0,629
Parámetros de Riesgo Vascular			
Homocisteína (μmol/l)	10,74 ± 2,42	10,06 ± 1,89	0,442
Fibrinógeno (mg/dl)	229 ± 42	221 ± 36	0,605
Lipoproteína (a) (mg/dl)	20,53 ± 15,10	12,77 ± 8,33	0,084

No existen diferencias significativas en las comparaciones de datos bioquímicos específicos entre el grupo de remeros y el grupo de ciclistas.

4.3.6. Grupos activos y grupo sedentario control

En la tabla 4.18 se muestran los datos bioquímicos específicos de los grupos comparativos de remeros, ciclistas y sedentario control.

A pesar de que en el análisis múltiple parece que se pierde la significación encontrada entre ciclistas y grupo sedentario para la homocisteína (niveles estadísticamente inferiores en ciclistas) al hacer el análisis ajustado por los parámetros físicos diferenciadores, vemos que se conserva la diferencia ($10,06 \pm 1,89$ y $12,06 \pm 2,08$ respectivamente; $p=0,028$).

Tanto en las comparaciones de grupos emparejados como en el test ANOVA no encontramos diferencias significativas en el valor plasmático de fibrinógeno, sin embargo nuestros resultados muestran una clara tendencia a estar más elevados en el grupo sedentario.

Por otro lado a pesar de los niveles más bajos de ECA en el grupo control sedentario, comparado con los grupos de remeros y ciclistas, el test ANOVA y las comparaciones de grupos, no muestran diferencias significativas en este parámetro.

Tabla 4.18 Datos bioquímicos específicos de los grupos de remeros, ciclistas y sedentario.

	Remeros n=16	Ciclistas n=14	Sedentario n=20	p
Parámetros de Disfunción Endotelial				
ECA (U/L)	39,71 ± 11,93	38,57 ± 13,01	31,42 ± 9,29	0,133
Selectina (ng/ml)	37,25 ± 15,54	42,92 ± 21,0	35,26 ± 18,81	0,518
Von Willebrand (%)	135 ± 24	140 ± 23	125 ± 21	0,225
Parámetros de Riesgo Vascular				
Homocisteína (µmol/l)	10,74 ± 2,42	10,06 ± 1,89	12,06 ± 2,08	0,066 C-S=0,061
Fibrinógeno (mg/dl)	229 ± 42	221 ± 36	266 ± 78	0,081
Lipoproteína (a) (mg/dl)	20,53 ± 15,10 14 (10-66)	12,77 ± 8,33 10 (10-35)	14,83 ± 13,41 10 (10-56)	0,328

C-S = Ciclistas y sedentario

4.4. PARÁMETROS DE FLUJOS ARTERIALES

4.4.1. Ciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.19 se muestran los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de ciclistas y sedentario control.

El valor de incremento de flujo en la pierna es significativamente mayor en el grupo de ciclistas comparado con el grupo sedentario control.

Se observan también valores de flujo en hiperemia de la pierna y del brazo significativamente mayores en el grupo de ciclistas.

Tabla 4.19 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de ciclistas y sedentario.

	Ciclistas n = 18	Sedentario n = 14	P
Banda elástica en la pierna (cm.)	33 ± 2,03	34,66 ± 2,60	0,08
Banda elástica en el brazo (cm.)	23,28 ± 1,68	23,5 ± 1,50	0,73
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	2,86 ± 1,02	3,42 ± 1,12	0,181
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	23,14 ± 8,28	15,17 ± 5,54	0,006
Incremento de flujo en la pierna (%)	739,35 ± 264	359,5 ± 142	< 0,001
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	6,9 ± 2,74	5,25 ± 2,13	0,086
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	22,02 ± 9,32	15,43 ± 5,52	0,031
Incremento de flujo en el brazo (%)	238,09 ± 141	223,45 ± 125	0,774
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	143 ± 32	147 ± 43	0,805

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

4.4.2. Exciclistas y grupo sedentario control

En la tabla 4.20 se muestran los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de exciclistas y sedentario control.

El grupo de exciclistas muestra valores de longitud de banda elástica de mercurio en pierna y en brazo significativamente menores a los valores medios del grupo sedentario control.

Se observan incrementos de flujo en pierna y en brazo significativamente mayores en el grupo de exciclistas comparados con el grupo sedentario control. No se observan diferencias en los demás parámetros de flujos arteriales.

Tabla 4.20 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de exciclistas y sedentario.

	Exciclistas n = 10	Sedentario n = 12	P
Banda elástica en la pierna (cm.)	33 ± 1,69	35,5 ± 2,56	0,024
Banda elástica en el brazo (cm.)	23,4 ± 1,34	24,75 ± 1,03	0,033
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	2,79 ± 0,68	3,24 ± 0,937	0,219
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	15,58 ± 4,67	14,41 ± 4,56	0,558
Incremento de flujo en la pierna (%)	564 ± 142	364 ± 95	0,001
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	4,03 ± 1,80	4,85 ± 2,57	0,406
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	17,69 ± 4,53	14,99 ± 4,52	0,179
Incremento de flujo en el brazo (%)	515 ± 233	291 ± 182	0,020
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	137 ± 24	149 ± 57	0,582

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

4.4.3. Exciclistas y ciclistas

En la tabla 4.21 se muestra los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de exciclistas y ciclistas.

Aunque en el análisis simple se observó una diferencia significativa en el valor de flujo en hiperemia en pierna, al ajustar por edad y peso se pierde la significación en la diferencia ($15,14 \pm 4,19$ y $23,46 \pm 3,17$ respectivamente; $p = 0,22$).

Tabla 4.21 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de exciclistas y ciclistas.

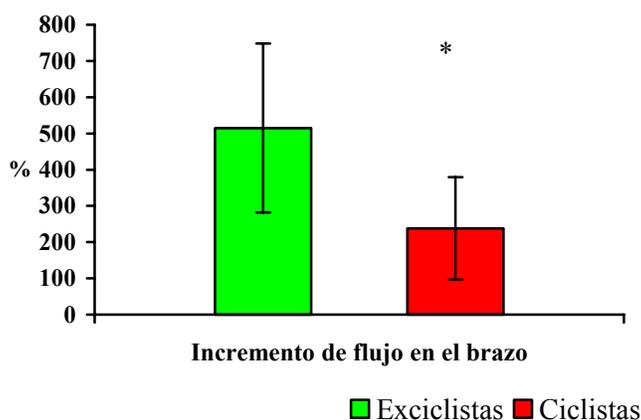
	Exciclistas n = 10	Ciclistas n = 22	P
Banda elástica en la pierna (cm.)	33 ± 1,69	33 ± 2,03	1,00
Banda elástica en el brazo (cm.)	23,4 ± 1,34	23,28 ± 1,68	0,861
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	2,79 ± 0,68	2,86 ± 1,02	0,841
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	15,58 ± 4,67	23,14 ± 8,28	0,017
Incremento de flujo en la pierna (%)	564 ± 142	739 ± 264	0,049
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	4,03 ± 1,80	6,90 ± 2,74	0,005
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	17,69 ± 4,53	22,02 ± 9,32	0,190
Incremento de flujo en el brazo (%)	515 ± 233	238 ± 141	0,001
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	137 ± 24	143 ± 32	0,629

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

Dados los valores parece mas debido a la n pequeña y la mayor exigencia estadística al ajustar. Así mismo, la diferencia significativa en el incremento de flujo en pierna, al ajustar por edad y peso se pierde (712 ± 125 y 633 ± 95 respectivamente; $p = 0,7$).

El grupo de ciclistas muestra un valor de flujo basal en brazo, significativamente mayor. Sin embargo, el grupo de exciclistas muestra un valor de incremento de flujo en el brazo significativamente mayor comparado al de ciclistas (Figura 7). Ambos permanecen después de realizar el ajuste por IMC y edad.

Figura 7. Incremento de flujo en el brazo de los grupos de exciclistas y ciclistas (* $p = 0,001$)



4.4.4. Remeros y grupo sedentario control

En la tabla 4.22 se muestran los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de remeros y sedentario control.

El grupo de remeros muestra valores de tamaño de banda elástica de mercurio en brazo, incremento de flujo en pierna, flujo en hiperemia en brazo y de incremento de flujo en brazo significativamente mayores comparados con el grupo sedentario control.

Por otro lado, el grupo de remeros muestra un valor medio de flujo basal en pierna significativamente menor al valor medio del grupo sedentario control.

Tabla 4.22 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de remeros y sedentario.

	Remeros n = 16	Sedentario n = 20	P
Banda elástica en la pierna (cm.)	35 ± 2,32	34,28 ± 2,05	0,396
Banda elástica en el brazo (cm.)	25,57 ± 2,10	23,57 ± 1,39	0,006
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	1,85 ± 0,34	3,32 ± 1,04	< 0,001
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	14,27 ± 4,77	14,79 ± 5,69	0,781
Incremento de flujo en la pierna (%)	783 ± 282 721 (412 – 1477)	353 ± 144 329 (67 – 612)	< 0,001
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	4,66 ± 1,93	5,15 ± 2,38	0,527
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	22,56 ± 5,66	14,47 ± 4,36	< 0,001
Incremento de flujo en el brazo (%)	535 ± 171	224 ± 149	< 0,001
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	143 ± 24	143 ± 39	0,982

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

4.4.5. Remeros y ciclistas

En la tabla 4.23 se muestran los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de remeros y ciclistas.

Tabla 4.23 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de remeros y ciclistas.

	Remeros n = 16	Ciclistas n = 14	P
Banda elástica en la pierna (cm.)	35,0 ± 2,32	33,0 ± 2,03	0,023
Banda elástica en el brazo (cm.)	25,57 ± 2,10	23,28 ± 1,68	0,004
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	1,85 ± 0,34	2,86 ± 1,02	0,003
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	14,27 ± 4,77	23,14 ± 8,28	0,002
Incremento de flujo en la pierna (%)	783 ± 282	739 ± 264	< 0,001
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	4,66 ± 1,93	6,90 ± 2,74	0,020
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	22,56 ± 5,66	22,02 ± 9,32	0,854
Incremento de flujo en el brazo (%)	535 ± 171	238 ± 141	< 0,001
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	143 ± 24	143 ± 32	0,985

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

El grupo de remeros muestra valores de incremento de flujo en pierna, incremento de flujo en brazo y flujo en hiperemia en pierna significativamente mayores a los ciclistas.

En el análisis simple se observó además una diferencia significativa en la longitud de banda elástica de mercurio en pierna, que perdió significación al ajustar por edad y peso ($33,7 \pm 0,4$ y $34,2 \pm 0,4$ respectivamente; $p = 0,56$). Lo mismo ocurre con la longitud de banda elástica de mercurio en brazo, que pierde su significación en el ajuste ($24,3 \pm 0,3$ y $24,5 \pm 0,3$ respectivamente; $p = 0,79$).

En relación con los flujos basales en pierna, después de realizar el ajuste por edad y peso, se conserva la diferencia significativa ($1,69 \pm 0,23$ y $3,01 \pm 0,23$ respectivamente; $p = 0,002$).

Sin embargo, los flujos basales en el brazo entre ambos grupos pierden significación con el ajuste ($5,14 \pm 0,74$ y $6,42 \pm 0,74$ respectivamente; $p = 0,288$).

4.4.6. Grupos activos y grupo sedentario control

En la tabla 4.24 se muestran los parámetros de flujos arteriales de los grupos comparativos de remeros, ciclistas y grupo sedentario control.

En las comparaciones entre grupos emparejados, la longitud de la banda elástica de mercurio en la pierna es significativamente mayor en los remeros comparado con los ciclistas ($p = 0,023$) no así en el test ANOVA, aunque muestra una tendencia clara ($p=0,055$).

Llamativamente los remeros muestran un flujo basal en las piernas menor que el de los ciclistas, y estos que los controles. En los brazos el flujo basal es menor de nuevo en los remeros, pero los ciclistas presentan un flujo basal superior a los controles. Por lo demás, todas las diferencias que se observan en las comparaciones entre grupos, se mostraron en el test ANOVA de comparaciones múltiples.

Al realizar un análisis de múltiples comparaciones entre los grupos activos y el grupo control, se encuentra un incremento de flujo en la pierna significativamente mayor en el grupo de sujetos activos (ciclistas y remeros) comparado con el grupo sedentario control.

Así mismo, los remeros presentan un incremento de flujo en la pierna significativamente mayor al incremento de flujo en la pierna de los ciclistas.

Por otra parte, los remeros muestran un incremento en el flujo arterial del brazo significativamente superior al grupo sedentario control y al grupo de ciclistas en activo, sin que se observen diferencias entre el grupo de ciclistas activos y el grupo sedentario control respecto a este parámetro.

Tabla 4.24 Parámetros de flujos arteriales de los grupos de remeros, ciclistas y sedentario.

	Remeros n = 16	Ciclistas n = 14	Sedentario n = 20	p
Banda elástica en la pierna (cm.)	35,0 ± 2,32	33,0 ± 2,03	34,28 ± 2,05	0,055
Banda elástica en el brazo (cm.)	25,57 ± 2,10 26 (22-30)	23,28 ± 1,68 24 (20-26)	23,57 ± 1,39 24 (22-26)	0,002 R-S=0,012 R-C=0,004
FB en la pierna (ml/min x 100 ml)	1,85 ± 0,34	2,86 ± 1,02	3,32 ± 1,04	< 0,001 R-S<0,001 R-C=0,012
FHR en la pierna (ml/min x 100 ml)	14,27 ± 4,77	23,14 ± 8,28	14,79 ± 5,69	< 0,001 R-C=0,002 C-S=0,001
Incremento de flujo en la pierna (%)	783 ± 282	739 ± 264	353 ± 144	< 0,001 R-C<0,001 R-S<0,001 C-S<0,001
FB en el brazo (ml/min x 100 ml)	4,66 ± 1,93	6,90 ± 2,74	5,15 ± 2,38	0,038 R-C=0,042
FHR en el brazo (ml/min x 100 ml)	22,56 ± 5,66	22,02 ± 9,32	14,47 ± 4,36	0,001 R-S=0,003 C-S=0,005
Incremento de flujo en el brazo (%)	535 ± 171	238 ± 141	224 ± 149	< 0,001 R-C<0,001 R-S<0,001
Incremento de flujo nitroglicerina (%)	143 ± 24	143 ± 32	143 ± 39	1,0

R-C = Remeros y ciclistas, R-S = Remeros y sedentario, C-S = Ciclistas y sedentario

FB = Flujo basal, FHR = Flujo en Hiperemia reactiva

4.5. CORRELACIONES

Al realizar un estudio de correlación simple de los parámetros de flujo arterial con el resto de parámetros analizados en el total de sujetos analizados se encuentran las siguientes asociaciones (Tabla 4.25).

Tabla 4.25. Correlaciones simples.

	r	p
Incremento de flujo en brazo – Incremento de flujo en pierna	0,45	<0,001
Incremento de flujo en brazo – Edad	0,35	0,006
Incremento de flujo en pierna – Peso	(-0,34)	0,010
Incremento de flujo en pierna – Glucosa sérica	0,31	<0,019
Incremento de flujo en brazo – TAS	0,33	0,02
Incremento de flujo en brazo – Lipoproteína (a)	0,39	0,008
Incremento de flujo en brazo – Homocisteína	0,28	0,04

Además de las correlaciones mostradas, destacar una serie de asociaciones importantes: lipoproteína (a) y TAS ($r=0,49$; $p=0,004$); PCR y fibrinógeno ($r=0,73$, $p<0,001$); y, PCR y factor Von Willebrand ($r=0,35$, $p=0,039$); homocisteína y plaquetas ($r=0,36$, $p=0,009$).

4.6. REGRESIÓN LINEAL

En el estudio de regresión lineal se analiza la verdadera implicación de las asociaciones encontradas en el análisis simple para una variable dada “variable dependiente”.

4.6.1. Variable dependiente “incremento en brazo”

En un primer análisis se ha introducido como variable dependiente “el incremento en brazo” y como independientes: “incremento en pierna”, “edad”, “TAS”, “lipoproteína (a)” y “homocisteína”. En este análisis entra en la asociación en primer lugar la lipoproteína (a) (Beta=0,38; $p=0,03$); en segundo lugar entra el incremento en pierna (Beta=0,28; $p=0,028$) y en tercer lugar la edad (Beta=0,24; $p=0,017$). Consideramos que por el alto grado de

asociación con el resto de las variables, la edad podría actuar como un elemento confusional por lo que repetimos el mismo análisis excluyendo la edad y el resto de variables igual. En este análisis vuelve a entrar en el modelo predictivo la lipoproteína (a) como el factor más importante (Beta=0,38; p=0,03); en segundo lugar entra de nuevo el incremento en pierna con la misma significación y en tercer lugar entraría la homocisteína (Beta=0,26; p=0,032).

4.6.2. Variable dependiente “incremento en pierna”

En este segundo análisis se ha introducido como variable dependiente “el incremento en pierna” y como independientes: “incremento en brazo”, “peso” y “glucosa” que son las variables relacionadas con el “incremento en pierna” en el estudio simple.

En este caso, todas las variables entran de manera significativa en el análisis. En primer lugar entra el “peso” (Beta= -0,36; p<0,001); en segundo lugar entra “la glucosa” (Beta=0,34; p<0,001) y en tercer lugar “el incremento en brazo” (Beta=0,22; p=0,02).

5. DISCUSIÓN

El ejercicio físico induce una serie de modificaciones en el aparato cardiovascular, tanto estructurales como funcionales. Nuestro estudio nos ha permitido confirmar algunas de estas alteraciones y nos sugiere algunas hipótesis para futuras explicaciones de algunos de los cambios morfológicos inducidos por el ejercicio.

A su vez hemos querido conocer si entre el ejercicio isométrico y el dinámico existen diferencias en cuanto a la respuesta del aparato cardiovascular. Por ello y por disponer de grupos de atletas asequibles en nuestro medio, elegimos como representativos, un grupo de remeros en activo que podría representar un ejercicio con ambos componentes de entrenamiento, dinámico e isométrico ⁽²⁰⁷⁾, con un número de horas de entrenamiento semanal superior a 20 horas a la semana y un grupo de ciclistas profesionales en activo con entrenamientos de ejercicio de predominio dinámico, que contaban al momento del estudio con un número de horas de entrenamiento semanal superior a 18,20 horas a la semana, para observar los cambios inducidos por la isquemia durante la fase de máximo estrés físico.

Dos grupos más nos ayudaron a completar el estudio y confirmar la temporalidad de algunas de las modificaciones fisiológicas que encontramos. Un grupo formado por 10 exciclistas que llevaban al menos los últimos 5 años sin competir, y con un número de horas de ejercicio semanal muy reducido (menor a 6 horas a la semana), similar al del grupo control (menor a 6 horas a la semana), con el que les comparamos. Por otro lado los sujetos controles sedentarios fueron seleccionados para poderse comparar con cada grupo de atletas en razón de la edad. Las horas de ejercicio semanales de este grupo, evidentemente eran muy reducidas comparadas con los grupos de atletas en activo, y similares a los de los exciclistas. Todos los atletas y controles eran varones.

En relación con los datos físicos generales las comparaciones entre los hallazgos en el grupo control de jóvenes con un estilo de vida sedentario encontramos que el grupo sedentario muestra frecuencias cardíacas más altas que los grupos activos entrenados, ciclistas y remeros. En general la actividad física regular, conduce a procesos de adaptación en el sistema cardiovascular entre los que destacan: la economía en la función cardíaca,

mejora en la vascularización periférica y predominio de la influencia del sistema nervioso parasimpático. Los dos primeros provocan una mejora en el consumo de oxígeno y, junto a la adaptación del parasimpático, condicionan una menor frecuencia cardiaca y una disminución de la presión arterial tanto en reposo como durante el ejercicio.

Estos cambios proporcionan una mayor reserva circulatoria, que le permiten prolongar su esfuerzo y conseguir la recuperación en menos tiempo.

El grupo de exciclistas mostró una frecuencia cardiaca inicial significativamente menor que el grupo sedentario control. En todas las edades hay una tendencia inversa entre el grado de entrenamiento aeróbico y la FC máxima, lo que es lo mismo que a medida que un individuo tenga un mayor entrenamiento, este alcanza FC más bajas en el máximo esfuerzo ⁽²⁰⁸⁾.

Se observa un índice de masa corporal significativamente mayor del grupo de exciclistas con relación a los ciclistas activos, debido principalmente al balance negativo de gasto de energía por la falta de actividad física.

El índice de masa corporal es tan alto en los remeros como en los sedentarios, siendo inferior en los ciclistas, como consecuencia de un mayor consumo energético, se ha referido un menor índice de masa corporal en sujetos que realizan ejercicio de predominio dinámico al compararlos con sujetos que realizan ejercicio de predominio isométrico y con sujetos sedentarios ⁽⁹⁾.

La asociación de la actividad física con una reducción en el IMC se relaciona también con cambios favorables en los niveles circulantes de lípidos y de lipoproteínas, disminución de los valores de colesterol total aunado a un incremento en la fracción HDL de colesterol y descensos en las fracciones VLDL y LDL de colesterol ⁽⁶⁾. Nuestros resultados muestran que los grupos de sujetos con actividad física intensa tienen valores de colesterol total y LDL colesterol significativamente menores que el grupo sedentario.

El grupo de exciclistas muestra un valor de glucosa significativamente mayor al valor del grupo sedentario control, aunque dentro de límites de normalidad. Esta diferencia se podría explicar por la alteración en los niveles de leptina y adiponectina con un aumento en

el consumo de carbohidratos en el grupo de exciclistas después de cesar su periodo de actividad profesional ⁽²⁰⁹⁾.

Por otro lado, el grupo de ciclistas muestra un valor medio de leucocitos significativamente mayor al valor medio del grupo de exciclistas. La causa de este aumento es en parte debido a el incremento de la velocidad y del volumen sanguíneo durante el ejercicio que moviliza desde las paredes vasculares hacia el torrente circulatorio un gran número de leucocitos que en reposo están adosados a las paredes vasculares. Esto se puede justificar por la elevada susceptibilidad a las infecciones de los atletas que realizan ejercicio extenuante, respuesta inflamatoria secundaria al daño tisular inducido por el ejercicio y se compensa con la infrarregulación de la IL-18 ^(210 211).

En cuanto a las determinaciones específicas, observamos un nivel plasmático de homocisteína significativamente mayor en el grupo sedentario con relación al grupo de ciclistas. Los niveles elevados de homocisteína están relacionados con un mayor riesgo de padecer un evento cardiovascular ⁽¹³¹⁾. Esta asociación es independiente de otros factores de riesgo cardiovascular como hipertensión arterial e hipercolesterolemia ⁽¹⁴⁰⁾.

Las asociaciones inversas del incremento de flujo en el brazo con disminución en los niveles de homocisteína y lipoproteína (a), hacen evidente que a mayor incremento de reactividad vascular condicionado por el ejercicio se produce disminución en estos marcadores de riesgo cardiovascular ⁽²¹²⁾.

Del mismo modo, la LDL-oxidada, presenta una clara tendencia a estar mas elevada en el grupo sedentario. Además, la susceptibilidad de la fracción LDL del colesterol a oxidarse es mayor como lo demuestran trabajos previos en los cuales los sujetos que no realizan ejercicio tienen mayores niveles de LDL-ox ⁽²¹³⁾.

Nuestros resultados muestran que la fracción LDL del colesterol muestra mayor resistencia a la oxidación en sujetos que realizan entrenamiento al compararlos con la fracción LDL del colesterol de los sujetos sedentarios, lo cual se añade a la protección que proporciona el aumento de la fracción HDL del colesterol y a la disminución de las concentraciones de triglicéridos.

El comportamiento de los niveles de ECA en el grupo de exciclistas muestra tendencia a presentar niveles más elevados de ECA que los controles sedentarios. Posiblemente el pequeño tamaño de la muestra hace que no alcance significación este dato. Cuando se comparan los deportistas activos frente a los sedentarios, se muestra también esta tendencia. Los remeros tienen niveles más elevados de ECA que los controles sedentarios. Así mismo el grupo de ciclistas muestra niveles más altos, aunque no alcanza significación.

Se ha reportado que los sujetos con la variante alelo I del sistema renina angiotensina en su genotipo se integran con mayor frecuencia a programas de entrenamiento, como una propensión genética para adherirse a los regímenes de ejercicio ⁽²¹⁴⁾.

Sin embargo los niveles significativamente superiores de enzima convertidora de angiotensina se han relacionado con los sujetos que realizan ejercicio y tienen alelo D en su fenotipo ⁽¹⁸⁹⁾.

Por todo lo anteriormente comentado, creemos de gran interés realizar la caracterización del alelo I/D en el genotipo de todos los sujetos que incluimos en nuestro estudio y que se requieren realizar más estudios que confirmen la asociación y sus consecuencias.

Por otra parte, aunque no se alcance significación, entre ciclistas y exciclistas, el grupo que tiene ECA más elevado es el de exciclistas, y estos que los sedentarios, que son el grupo con niveles más bajo. Aunque solo a nivel de hipótesis, las tendencias observadas, parecen indicar que el ejercicio eleva claramente los niveles de los factores constrictores como el ECA, y que al dejar de hacer ejercicio continúan elevados. La primera parte de esta hipótesis tiene una clara explicación, consistente con los datos que encontramos en el ámbito de la vasodilatación dependiente de la liberación de factores dilatadores endógenos, como NO. El ejercicio muy activo, aumenta mucho la vasodilatación endotelio dependiente, pero para mantener el tono arterial sin que la presión arterial se derrumbe se precisa de la contrarregulación de los factores constrictores ⁽⁶⁸⁾. Por tanto si elevamos la expresión de factores dilatadores, paralelamente se elevan los factores constrictores. El problema es lo que acontece después. Al dejar de realizar ejercicio muy activo, la expresión de los factores dilatadores en forma de vasodilatación endotelio dependiente, con aumento del flujo del antebrazo, se reduce de forma paulatina, pero no ocurre así con los factores constrictores, como encontramos con la enzima ECA.

Cual pueda ser el significado de este comportamiento es una de las incógnitas más interesantes aún sin responder. Pero creemos que posiblemente parte de las modificaciones que se producen durante el ejercicio muy intenso y mantenido, como es el deporte profesional, condiciona cambios que quizás expliquen en parte la falta de protección a largo plazo de este tipo de entrenamiento.

El ejercicio físico aumenta la actividad oxidativa, como se expresa en el hecho de que los niveles de LDL oxidada sean más elevados en ciclistas que en exciclistas. Sin embargo durante la actividad física se pueden inducir mecanismos de protección que pueden mitigar el incremento del metabolismo oxidativo que ocurre al realizar ejercicio. Uno de estos mecanismos puede ser la menor susceptibilidad de oxidación de la fracción LDL, que puede ser consecuencia de un incremento en la capacidad antioxidante.

Se observa un valor medio de TAS significativamente menor en el grupo sedentario control con relación al grupo de exciclistas. Creemos que el ejercicio mejora la calidad de la fracción LDL de colesterol y que la producción de radicales libres en el ejercicio es atenuada mediante el mayor estado antioxidante total, que se conserva con el paso del tiempo ⁽²¹⁵⁾.

La asociación entre el ejercicio y el estado antioxidante queda demostrada al mostrar este último una asociación positiva con el incremento de flujo en el brazo.

En nuestros resultados observamos una tendencia a valores de TAS menores en los grupos activos cuando se comparan con el grupo de exciclistas. Sin embargo existen en la literatura resultados contradictorios en cuanto a los niveles de antioxidantes en deportistas profesionales, algunos autores muestran un aumento en los niveles de antioxidantes durante el entrenamiento ⁽²¹⁶⁾, otros refieren una disminución de los mismos durante los entrenamientos ⁽²¹⁷⁾, algunos como Bergholm y su grupo ⁽²¹⁸⁾ no solo refieren una disminución en los antioxidantes circulantes, además muestran una disminución en la vasodilatación dependiente del endotelio y sugieren que el entrenamiento deportivo puede afectar de forma adversa la función vascular.

En nuestro estudio, no existe diferencia significativa en los niveles de antioxidantes total entre los ciclistas y los sujetos sedentarios. Esto puede explicado hipotéticamente por la

producción de radicales libres, los cuales consumen los antioxidantes disponibles en sujetos deportistas activos.

Esto puede sugerir que al realizar ejercicio existe un consumo de antioxidantes pero que realizar ejercicio de forma periódica durante un periodo de tiempo continuo de por lo menos tres años induce cambios adaptativos que protegen la función vascular ⁽²¹⁵⁾.

Tanto en las comparaciones de grupos emparejados como en el test ANOVA no encontramos diferencias significativas en el valor plasmático de fibrinógeno, sin embargo nuestros resultados muestran una clara tendencia a estar mas elevados en el grupo control sedentario.

El fibrinógeno se asocia de manera positiva con la mayoría de los factores de riesgo cardiovascular: propensión genética, colesterol total, triglicéridos, hábito tabáquico, hipertensión, diabetes mellitus..., y existe una correlación inversa entre Fb y HDL. Algunos autores han expresado la idea de que el Fb no sea un verdadero factor de riesgo cardiovascular sino simplemente un marcador de la misma debido a su acción como reactante de fase aguda. Como precursor de la fibrina por acción de la trombina, favorece los procesos de trombosis y las complicaciones de la aterosclerosis, y se encuentra elevado en situaciones como la cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular isquémica y enfermedad vascular periférica.

El estudio de la función endotelial por medio de la pletismografía con oclusión del flujo en las extremidades, y el estudio de la respuesta vasodilatadora postisquémica, ha sido el método que hemos empleado para conocer la respuesta del ejercicio sobre la función del endotelio, más precisamente, para el estudio de la liberación de factores vasodilatadores derivados del endotelio, por medio del estímulo mecánico que supone la hiperemia.

El primer dato llamativo lo obtuvimos al estudiar el flujo basal. Aparentemente no hay diferencias entre los grupos, ciclistas, exciclistas y sedentarios que tienen un flujo basal similar en las extremidades superiores e inferiores. Cuando nos fijamos en los remeros, estos tienen un flujo basal en las piernas, con tendencia a ser menor que los controles, los ciclistas o exciclistas. Esta diferencia tan llamativa tiene que ver con el tipo de ejercicio que

discutíamos al principio. Los remeros tienen un período de ejercicio de resistencia, en isquemia e hiperemia posterior, superior a los ciclistas.

Creemos que el trabajo predominante en isquemia, con mayor hipertrofia muscular, determina la reducción del flujo basal ^(219 220).

En cuanto a los incrementos de flujo arteriales, nuestros datos indican que el mayor número de horas de entrenamiento se relaciona con mayores incrementos en el flujo arterial durante hiperemia reactiva en las piernas de los ciclistas y en los remeros lo cual tiene relación con el territorio muscular en el que predomina el entrenamiento, en este sentido se observa como el incremento del flujo arterial de las extremidades superiores de los remeros es significativamente mayor que el de los ciclistas, y los sedentarios, y que no se observa diferencia significativa entre los incrementos de flujo arterial entre los ciclistas y el grupo de sujetos sedentarios.

En situaciones de incremento sostenido y habitual del flujo arterial a largo plazo como en los deportistas de alto rendimiento se observa aumento de la producción y de la acción de factores que producen vasodilatación que contrarrestan la acción de las sustancias vasoconstrictoras también sintetizadas por el endotelio ⁽²²¹⁾.

Por otro lado, los exciclistas, muestran incrementos de flujo en pierna y en brazo significativamente mayores comparados con el grupo sedentario. Sin embargo, el grupo de exciclistas muestra un valor de incremento de flujo en el brazo significativamente mayor comparado al de ciclistas. Es probable que debido al incremento crónico en la tensión de roce se favorezca la acción mitogénica de los factores que modulan la remodelación vascular y la angiogénesis que se produce por el entrenamiento físico.

La síntesis de factores derivados del endotelio como el NO y las prostaciclina es mayor en los territorios sujetos a ejercicio que a nivel sistémico con aumentos consecuentes en el flujo vascular y en la tensión de roce ^(222 223).

La correlación positiva entre el incremento de flujo en brazo e incremento de flujo en pierna evidencia el efecto sistémico del aumento crónico del flujo vascular y por ende en la tensión de roce más que un efecto local sobre la extremidad más entrenada. Encontramos además, mayores incrementos de los flujos arteriales en los sujetos que realizan sobrecarga de ejercicio en comparación con los sedentarios, este incremento fue significativamente

mayor tanto en las extremidades con mayor sobrecarga de ejercicio como en las que soportaban menor sobrecarga.

Estos cambios son similares a los reportados en los vasos sujetos a largos periodos de incremento intermitente del flujo vascular ⁽²¹³⁾, o a los cambios inducidos en la reactividad vascular de las arterias coronarias después de varias semanas de ejercicio, resultando un incremento en la síntesis y en la actividad endotelial de NO y por tanto en una mayor vasodilatación dependiente del incremento del flujo arterial ⁽²²⁴⁾.

En este sentido, la sobrecarga de ejercicio en el territorio vascular de las piernas de remeros y de ciclistas produce incrementos similares de hiperemia reactiva.

Respecto a la edad, está claro que los jóvenes tienen una mayor síntesis de factores vasodilatadores que los viejos ⁽²²⁵⁾ y por ello mejor velocidad de flujo en hiperemia reactiva, y que el aumento de flujo con el entrenamiento se correlaciona con la mayor concentración de NO y menor de ET-1, y que estos cambios se pierden al dejar el entrenamiento ⁽²²⁶⁾.

Por tanto nuestro estudio ha puesto de manifiesto que el ejercicio dinámico o isométrico, mejora la vasodilatación endotelio dependiente tanto en extremidades superiores como inferiores, a expensas de mayor síntesis de factores dilatadores como el NO. Ello conlleva un aumento aunque no significativo de factores constrictores para mantener un adecuado tono arterial basal, pero se necesitan más estudios para comprobar cuales son los distintos factores que intervienen en el mantenimiento de este tono y como varía su equilibrio al dejar de hacer ejercicio. Posiblemente en la permanencia de la síntesis elevada de factores constrictores puede estar alguna de las modificaciones que se producen en personas entrenadas al dejar el ejercicio activo.

Se observa una asociación significativa y positiva entre los niveles plasmáticos de glucosa e incremento de flujo en pierna ($r = 0,31$; $p < 0,019$), esto confirma hallazgos de otros autores que habían encontrado que la hiperglucemia en sanos, produce una vasodilatación músculo esquelética. ⁽²²⁷⁾.

En resumen, el entrenamiento físico produce un aumento de la vasodilatación reactiva a la isquemia en la extremidad que tiene mayor carga de trabajo físico, observando además un incremento a nivel sistémico, el cual se relaciona con el incremento del NO y paralelamente con un aumento compensatorio de factores vasoconstrictores; los grupos con antecedente de haber realizado ejercicio y los que realizan activamente ejercicio muestran cambios favorables en los niveles circulantes de lípidos y de lipoproteínas con disminuciones en los marcadores de riesgo cardiovascular, sin embargo muestran datos sugestivos que al menos en algunos de los subgrupos, parecen existir tendencias al aumento de ECA. Por lo cual creemos de gran interés realizar la caracterización del alelo I/D en el genotipo del sistema renina angiotensina de todos los sujetos que incluimos en nuestro estudio y realizar más estudios que confirmen esta tendencia y analicen sus consecuencias.

6. CONCLUSIONES

1. La actividad física realizada por deportistas de alta competición por más de 5 años con entrenamiento regular, produce una serie de cambios significativos en los parámetros bioquímicos que se relacionan con beneficios cardiovasculares.
2. El incremento de factores vasodilatadores en los deportistas de alto rendimiento se compensa con niveles mayores de sustancias vasoconstrictoras también sintetizadas por el endotelio.
3. El entrenamiento profesional de forma regular por un periodo superior a 5 años induce la disminución de la fracción LDL oxidada.
4. Tras dejar de realizar ejercicio el efecto protector del estado antioxidante total se mantiene por lo menos durante un año, pero se pierde con el tiempo.
5. No encontramos diferencias significativas en cuanto a función endotelial medida por hiperemia reactiva entre los ejercicios con predominio dinámico e isométrico.
6. El incremento de flujo tras la hiperemia reactiva como expresión de una mayor vasodilatación endotelio dependiente, expresa que el entrenamiento físico, tanto dinámico como isométrico aumenta la síntesis y liberación de NO.
7. Nuestro estudio confirma que la actividad física que se realiza en el entrenamiento profesional de forma regular por un periodo superior a 5 años produce diferencias significativas en los incrementos de flujos arteriales y en hiperemia reactiva.
8. El mayor número de horas de entrenamiento se relaciona con mayores incrementos en el flujo arterial durante hiperemia reactiva.
9. La asociación entre ejercicio y estado antioxidante se correlaciona de forma positiva con el incremento de flujo en el brazo.

7. BIBLIOGRAFIA

1. Caspersen CJ, Powell KE, Christenson GM. Physical activity, exercise, and physical fitness: definitions and distinctions for health-related research. *Public Health Rep* 1985;100:126-131.
2. Blair SN, Horton E, Leon AS, Lee IM, Drinkwater BL, Dishman RK, Mackey M, Kienholz ML. Physical activity, nutrition and chronic disease. *Med Sci Sports Exerc* 1996;28:335-349.
3. Ortega Sánchez-Pinilla, R. Introducción en el libro: Medicina del ejercicio físico y del deporte para la atención a la salud. Ediciones Díaz de Santos. Madrid España 1992 ISBN: 84-7978-053-3.
4. Tammelin T, Nayha S, Rintamaki H, Zitting P. Occupational physical activity is related to physical fitness in young workers. *Med Sci Sports Exerc* 2002;30:158-165.
5. Ward A, Malloy P, Rippe J. Pautas para la prescripción de ejercicio en sujetos normales y en cardiópatas. *Ejercicio y el corazón. Clin Cardiol N Am* 1987;2:211-225.
6. Carr M, Jones J. Physiological effects of exercise on stroke survivors. *Top Stroke Rehabil* 2003;9:57-64.
7. Booher MA, Smith BW. Physiological effects of exercise on the cardiopulmonary system. *Clin Sports Med* 2003;22:1-21.
8. Mcardle WD, Katch FI, Katch VL. Fisiología del ejercicio. Ediciones Alianza editorial. Madrid, 1986. ISBN: 84-206-5704-2.
9. Grund A, Krause H, Kraus M, Siewers M, Rieckert H, Muller MJ. Association between different attributes of physical activity and fat mass in untrained, endurance- and resistance-trained men. *Eur J Appl Physiol* 2001;84:310-320.
10. Mensink GB, Heerstrass DW, Neppelenbroek SE, Schuit AJ, Bellach BM. Intensity, duration and frequency of physical activity and coronary risk factors. *Med Sci Sports Exerc* 1997;29:1192-1198.
11. Duncan GE, Anton SD, Sydeman SJ, Newton RL Jr, Corsica JA, Durning PE, Ketterson TU, Martin AD, Limacher MC, Perri Mg. Prescribing exercise at varied levels of intensity and frequency: a randomized trial. *Arch Intern Med* 2000;165:2362-2369.
12. Currens JH, White PD. Half century of running: clinical, physiologic and autopsy findings in the case of Clarence De Mar, "Mr. Marathoner". *Nord Hyg Tidskr* 1961;265:988-993.

13. Sessa WC, Pitchard K, Seyedi N, Wang J, Hintze TH. Chronic exercise in dogs increases coronary vascular nitric oxide production and endothelial cell nitric oxide synthase gene expression. *Circ Res* 1994;74:349-353.
14. Muller JM, Meyers PF, Laughlin H. Vasodilator responses of coronary resistance arteries of exercise-trained pigs. *Circulation* 1994;89:2308-2314.
15. Tanaka H, Dinunno FA, Monahan KD, Clevenger CM, DeSouza CA, Seals DR. Aging, habitual exercise, and dynamic arterial compliance. *Circulation* 2000;102:1270-1275.
16. Matz RL, Schott C, Stoclet JC, Andriantsitohaina R. Age-related endothelial dysfunction with respect to nitric oxide, endothelium-derived hyperpolarizing factor and cyclooxygenase products. *Physiol Res* 2000;49:11-18.
17. Dohi Y, Kojima M, Sato K, Luscher TF. Age-related changes in vascular smooth muscle and endothelium. *Drugs Aging* 1995;7:278-291.
18. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Endothelial dysfunction in hypertension. *J Cardiovasc Pharmacol* 2001;38:S11-S14.
19. Ishibashi Y, Takahashi N, Shimada T, Sugamori T, Sakane T, Umeno T, Hirano Y, Oyake N, Murakami Y. Short duration of reactive hyperemia in the forearm of subjects with multiple cardiovascular risk factors. *Circ J* 2006;70:115-123.
20. Kurl S, Laukkanen JA, Rauramaa R, Lakka TA, Sivenius J, Salonen JT. Cardiorespiratory fitness and the risk for stroke in men. *Arch Intern Med* 2003;163:1682-1688.
21. Sundquist K, Johansson SE, Qvist J, Sundquist J. Does occupational social class predict coronary heart disease after retirement? A 12-year follow-up study in Sweden. *Scand J Public Health* 2005;33:447-454.
22. Redwood DR, Rosing DR, Epstein SE. Circulatory and symptomatic effects of physical training in patients with coronary artery disease and angina pectoris. *N Engl J Med* 1972;286:959-965.
23. Clausen JP. Circulatory adjustments to dynamic exercise and effect of physical training in normal subjects and in patients with coronary artery disease. *Prog Cardiovasc Dis* 1976;18:459-495.
24. Tran ZV, Weltman A. Differential effects of exercise on serum lipid and lipoprotein levels seen with changes in body weight: a meta-analysis. *JAMA* 1985;254:919-924.
25. Wood PD, Stefanick ML, Williams PT, Haskell WL. The effects on plasma lipoproteins of prudent weight-reducing diet, with or without exercise in overweight men and women. *N Engl J Med* 1991;325:461-466.

26. Helmrich SP, Ragland DR, Leung RW, Paffenbarger RS. Physical activity and reduced occurrence of non-insulin-dependent diabetes mellitus *N Engl J Med* 1991;325:147-152.
27. Hauner H. Managing type 2 diabetes mellitus in patients with obesity. *Treat Endocrinol* 2004;3:223-232.
28. Davey Smith G, Bracha Y, Svendsen KH, Neaton JD, Haffner SM, Kuller LH. Incidence of type 2 diabetes in the randomized multiple risk factor intervention trial. *Ann Intern Med* 2005;142:313-322.
29. Martin JE, Dubbert PM, Cushman WC. Controlled trial of aerobic exercise in hypertension. *Circulation* 1990;81:1560-1567.
30. Appel LJ, Champagne CM, Harsha DW, Cooper LS, Obarzanek E, Elmer PJ, Stevens VJ, Vollmer WM, Lin PH, Svetkey LP, Stedman SW, Young DR. Effects of comprehensive lifestyle modification on blood pressure control: main results of the PREMIER clinical trial. *JAMA* 2003;289:2083-2093.
31. Acierno LJ. Introducción en el libro: Historia de la Cardiología. Ediciones Edika Med S.L. Barcelona 1995 ISBN: 8478771115.
32. Weibel ER, Palade GE. New cytoplasmic components in arterial endothelia. *J Cell Biol* 1964;23:101-112.
33. Jaffe EA, Nachman RL, Becker CG, Minick CR. Culture of human endothelial cells derived from umbilical veins: identification by morphologic and immunologic criteria. *J Clin Invest* 1973;52:2745-2756.
34. Jaffe EA, Hoyer LW, Nachman RL. Synthesis of antihemophilic factor antigen by cultured human endothelial cells. *J Clin Invest* 1973;52:2757-2764.
35. Henderson AH. Endothelium in control. *Br Heart J* 1991;65:116-125.
36. Aird W. Endothelium as an organ system. *Crit Care Med* 2004;32:S271-S279.
37. Jaffe EA. Cell biology of endothelial cells. *Hum Pathol* 1987;18:111-117.
38. Crone C. Modulation of solute permeability in microvascular endothelium. *Fed Proc* 1986;45:77-83.
39. Engelberg H. Heparin and the atherosclerotic process. *Pharmacol Rev* 1984;36:91-110.
40. Moncada S, Palmer RM, Higgs EA. Relationship between prostacyclin and nitric oxide in the thrombotic process. *Thromb Res* 1990;11:3-13.

41. Philips M, Jewel AG, Thoren S. Human endothelial cells produce plasminogen activator inhibitor and a tissue-type plasminogen activator-inhibitor complex. *Biochim Biophys Acta* 1984;802:99-110.
42. Joyce DE, Nelson DR, Grinnell BW. Leukocyte and endothelial cell interactions in sepsis: relevance of the protein C pathway. *Crit Care Med* 2004;32:S280-S286.
43. Doherty DE, Haslett C, Tonnesen MG, Henson PM. Human monocyte adherence: a primary effect of chemotactic factors on the monocyte to stimulate adherence to human endothelium. *J Immunol* 1987;138:1762-1771.
44. Monaco C, Andreakos E, Young S, Feldmann M, Paleolog E. T cell-mediated signaling to vascular endothelium: induction of cytokines, chemokines, and tissue factor. *J Leukoc Biol* 2002;71:659-668.
45. Frenette PS, Wagner DD. Adhesion Molecules – Part 1. *N Engl J Med* 1996;334:1526-1529.
46. Dejana E, Breviario F, Caveda L. Leukocyte-endothelial cell adhesive receptors. *Clin Exp Rheumatol* 1994;12:S25-S28.
47. Muller WA. Migration of leukocytes across the vascular intima. Molecules and mechanisms. *Trends Cardiovasc Med* 1995;5:15-20.
48. Smith CW. Endothelial adhesion molecules and their role in inflammation. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71:76-87.
49. Blankenberg S, Barbaux S, Tiret L. Adhesion molecules and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2003;170:191-203.
50. Jang Y, Lincoff AM, Plow EF, Topol EJ. Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 1994;24:1591-1601.
51. Berrazueta JR, Sampedro I, Garcia Unzueta M^a T, Llorca J, Bustamante M, Amado JA. Effect of transdermal nitroglycerin on inflammatory mediators in patients with peripheral atherosclerotic vascular disease. *Am Heart J* 2003;146:E14.
52. Krieglstein CF, Granger DN. Adhesion molecules and their role in vascular disease. *Am J Hypertens* 2001;14:44S-54S.
53. Sainani GS, Maru VG. The endothelial leukocyte adhesion molecule. Role in coronary artery disease. *Acta Cardiol* 2005;60:501-507.
54. Falkenhahn M, Gohlke P, Paul M, Stoll M, Unger T. The renin-angiotensin system in the heart and vascular wall: new therapeutic aspects. *J Cardiovasc Pharmacol* 1994;24:S6-S13.

55. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* 1988;332:411-415.
56. Moncada S, Grylewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;263:663-665.
57. Furchgott RF, Zawadzki JV. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. *Nature* 1980;288:373-376.
58. Palmer RM, Ferrige AG, Moncada S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. *Nature* 1987;327:524-526.
59. Friebe A, Koesling D. Regulation of nitric oxide-sensitive guanylyl cyclase. *Circ Res* 2003;93:96-105.
60. Grassi C, D'Ascenzo M, Azzena GB. Modulation of Ca(v)1 and Ca(v)2.2 channels induced by nitric oxide via cGMP-dependent protein kinase. *Neurochem Int* 2004;45:885-893.
61. Murrell W. Nitroglycerin as a remedy for angina pectoris. *Lancet* 1879;1:80-81.
62. Moncada S, Palmer RM, Higgs AE. The discovery of nitric oxide as the endogenous nitrovasodilator. *Hypertension* 1988;12:365-372.
63. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature* 1988;95:830-834.
64. Palmer RMJ, Rees DD, Ashton DS, Moncada S. L-Arginine is the physiological precursor for the formation of nitric oxide in the endothelium-dependent relaxation. *Biochem Biophys Res Commun* 1988;153:1251-1256.
65. Rees DD, Palmer RMJ, Hodson HF, Moncada S. A specific inhibition of nitric oxide formation from L-Arginine attenuates endothelium-dependent relaxation. *Br J Pharmacol* 1989;96:418-424.
66. Rees DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:3375-3378.
67. Vallance P, Collier J, Moncada S. Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet* 1989;11:997-1000.
68. Berrazueta JR, Baghat K, Vallance P, McAllister R. Dose and time-dependency of the dilator effects of the endothelin antagonist BQ 123, in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1997;44:569-571.

69. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO 3rd, Panza JA. Interactions between nitric oxide and endothelin in the regulation of vascular tone of human resistance vessels in vivo. *Hypertension* 2000;35:1237-1241.
70. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E. Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo. *Hypertension* 1986;8:27-44.
71. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986;250:H1145-H1149.
72. Gaw AJ, Aberdeen J, Humphrey PPA, Wadsworth RM, Burnstock G. Relaxation of sheep cerebral arteries by vasoactive intestinal polypeptide and neurogenic stimulation: inhibition of L-Arg-monomethyl-arginine in endothelium-denuded vessels. *Br J Pharmacol* 1991;102:567-572.
73. Radomski MW, Moncada S. Biological role of nitric oxide in platelet function. En: Moncada S, Higgs EA, Berrazueta JR. *Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system*. Madrid: Edicomplet 1991:45-56.
74. Knowles RG, Palacios M, Palmer RM, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1989;86:5159-5162.
75. Garthwaite J, Boulton CL. Nitric oxide signaling in the central nervous system. *Annu Rev Physiol* 1995;57:683-706.
76. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs A. The discovery and biological significance of the L-arginine: nitric oxide pathway. En *Clinical relevance of nitric oxide in the cardiovascular system*. Edits. Moncada S, Higgs A, Berrazueta JR. Madrid. Edicomplet 1991:5-30.
77. Garcia-Unzueta MT, Galo-Peralta F, Amado JA, Carmen Farinas M, Salas E, Berrazueta JR, Conzalez-Macias J. High intraplatelet cGMP levels in human sepsis. *Clin Microbiol Infect* 1998;4:163-165.
78. Berrazueta JR, Salas E, Amado JA, Sánchez de Vega MJ, Poveda JJ. Induction of nitric oxide synthase in human mammary arteries in vitro. *Eur J Pharmacol* 1994;251:303-305.
79. Petros A, Lamb G, Leone A, Moncada S, Bennett D, Vallance P. Effects of a nitric oxide synthase inhibitor in humans with septic shock. *Cardiovasc Res* 1994;28:34-39.
80. Phillip Dellinger R, Parrillo JE. Mediator modulation therapy of severe sepsis and septic shock: Does it work?. *Crit Care Med* 2004;32:282-286.
81. Kubes P, Suzuki M, Granger DN. Nitric oxide: an endogenous modulator of leukocyte adhesion. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991;88:4651-4655.

82. Kubes P, Granger DN. Nitric oxide modulates microvascular permeability. *Am J Physiol* 1992;262:611-615.
83. Bath PM, Hassall DG, Gladwin AM, Palmer RM, Martin JF. Nitric oxide and prostacyclin. Divergence of inhibitory effects on monocyte chemotaxis and adhesion to endothelium in vitro. *Arterioscler Thromb* 1991;11:254-260.
84. Kubes P. Polymorphonuclear leukocyte endothelium interactions: a role for pro-inflammatory and anti-inflammatory molecules. *Can J Physiol Pharmacol* 1993;71:88-97.
85. Akimitsu T, Gute DC, Korthuis RJ. Leukocyte adhesion induced by inhibition of nitric oxide production in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1995;78:1725-1732.
86. Haller H. Endothelial function. General considerations. *Drugs* 1997;53:S1-S10.
87. Dusting GJ, Hyland R, Hickey H, Makdissi M. Angiotensin-converting enzyme inhibitors reduce neointimal thickening and maintain endothelial nitric oxide function in rabbit carotid arteries. *Am J Cardiol* 1995;76:24E-27E.
88. Ferreira SH, Rocha Silva M. Potentiation of bradykinin by dimercaptopropanol (bal) and other inhibitors of its destroying enzyme in plasma. *Biochem Pharmacol* 1962;11:1123-1128.
89. Ferreira SH. A bradykinin-potentiating factor (BPF) present in the venom of bothrops jararaca. *Br J Pharmacol Chemother* 1965;24:163-169.
90. Sposito AC. Emergin insights into hypertension and dyslipidaemia synergies. *Eur Heart J Suppl* 2004;6:G8-G12.
91. Block ER, Patel JM, Angelides KJ, Sheridan NP, Garg LC. Hyperoxia reduces plasma membrane fluidity: a mechanism for endothelial cell dysfunction. *J Appl Physiol* 1986;60:826-835.
92. Dekker RJ, van Soest S, Fontijn RD, Salamanca S, de Groot PG, VanBavel E, Pannekoek H, Horrevoets AJ. Prolonged fluid shear stress induces a distinct set of endothelial cell genes, most specifically lung Kruppel-like factor (KLF2). *Blood* 2002;100:1689-1698.
93. Weber G, Fabbrini P, Resi L, Sforza V, Tanganelli P. "Lesions" and "dysfunction" of endothelial cells in experimental atherogenesis and athero-regression. *Arch De Vecchi Anat Patol* 1980;64:175-182.
94. Chand N, Altura BM. Acetylcholine and bradykinin relax intrapulmonary arteries by acting on endothelial cells: Role in lung vascular disease. *Science* 1981;213:1376-1379.

95. Ku D. Coronary vascular reactivity after acute myocardial ischemia. *Science* 1982;218:576-578.
96. De Groot PG, Willems C, Boers GH, Gonsalves MD, van Aken WG, van Mourik JA. Endothelial cell dysfunction in homocystinuria. *Eur J Clin Invest* 1983;13:405-410.
97. Colwell JA, Lopes-Virella M, Halushka PV. Pathogenesis of atherosclerosis in diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1981;4:121-133.
98. Anderson TJ. Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans. *J Am Coll Cardiol* 1999;34:631-639.
99. Luscher TF, Tanner FC, Dohi Y. Age, hypertension and hypercholesterolaemia alter endothelium-dependent vascular regulation. *Pharmacol Toxicol* 1992;70:S32-S39.
100. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith JT, Knab S, Delagrangé D, Lieberman EH, Ganz P, Greager MA, Yeung AC, Selwyn AP. Close relation of endothelial function in human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol* 1995;26:1235-1241.
101. Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-126.
102. Woodward M, Rumley A, Lowe GD, Tunstall-Pedoe H. C-reactive protein: associations with haematological variables, cardiovascular risk factors and prevalent cardiovascular disease. *Br J Haematol* 2003;122:135-141.
103. Soresen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ, Georgakopoulos D, Robinson J, Thomas O, Deanfield JE. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995;74:247-253.
104. Ceballos C, Ribes C, Amado JA, de Mier I, de Rozas LS, Berrazueta JR. Venous endothelial function in postmenopausal women after six months of tibolone therapy. *Maturitas* 2001;39:63-70.
105. Ceballos C, Ribes C, Amado JA, Perez J, Garcia Unzueta MT, de Berrazueta JR. Venous endothelial function in postmenopausal women who are receiving long-term estrogen and progestagen therapy. *Fertil Steril* 2000;74:268-273.
106. Dakak N, Husain S, Mulcahy D, Andrews NP, Panza JA, Waclawiw M, Schenke W, Quyyumi AA. Contribution of nitric oxide to reactive hyperemia: impact of endothelial dysfunction. *Hypertension* 1998;32:9-15.
107. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thüillez C, Luscher TF. Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo. *Circulation* 1995;91:1314-1319.

108. Gutiérrez-Sánchez JB, García-Unzueta MT, Amado-Señarís JA, Poveda-Sierra JJ, de Mier I, Berrazueta Fernández JR. Hiperemia reactiva de extremidades superiores e inferiores en diferentes grupos de entrenamiento deportivo. *Rev Mex Cardiol* 2004;15:23-29.
109. Ignarro LJ, Buga GM, Wook KS, Byrns RE, Chaudhuri G. Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987;84:9265-9268.
110. Murad F. Signal transduction using nitric oxide and cyclic guanosine monophosphate. *JAMA* 1996;276:1189-1192.
111. Watanabe H, Kakihana M, Ohtsuka S, Enomoto T, Yasui K, Sugishita Y. Platelet cyclic GMP. A potentially useful indicator to evaluate the effects of nitroglycerin and nitrate tolerance. *Circulation* 1993;88:29-36.
112. Hutchinson PJ, Palmer RM, Moncada S. Comparative pharmacology of EDRF and nitric oxide on vascular strips. *Eur J Pharmacol* 1987;141:445-451.
113. Radomski MW, Palmer RMJ, Moncada S. The role of nitric oxide and cGMP in platelet adhesion to vascular endothelium. *Biochem Biophys Res Commun* 1987;148:1482-1489.
114. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987;2:1057-1058.
115. Ichimori K, Pronai L, Fukahori M, Arroyo CM, Nakazawa H. Spin/trapping/ESR analysis of endothelium derived relaxing factors and their intermediates in human platelet. En: *Biology of Nitric Oxide*. Moncada S, Marletta MA, Hibbs JB Jr, Higgs EA. Edición Portland Press, London 1992:68-69.
116. Crane MS, Rossi AG, Megson IL. A potential role for extracellular nitric oxide generation in cGMP-independent inhibition of human platelet aggregation: biochemical and pharmacological considerations. *Br J Pharmacol* 2005;144:849-859.
117. Umans JG, Levi R. Nitric oxide in the regulation of blood flow and arterial pressure. *Annu Rev Physiol* 1995;57:771-790.
118. Bouza C, Sotillo JC. Relaciones leucocito-endotelio: moléculas de adhesión celular. *Med Intensiva* 1997;21:384-391.
119. Gearing AJ, Newmam W. Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today* 1993;14:506-512.
120. Malik AB, Lo SK. Vascular endothelial adhesion molecules and tissue inflammation. *Pharmacol Rev* 1996;48:213-229.

121. Blann AD, McCollum CN. Circulating endothelial cell/leucocyte adhesion molecules in atherosclerosis. *Thromb Haemost* 1994;72:151-154.
122. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, Stampfer MJ, Allen J. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet* 1998;351:88-92.
123. Guray U, Erbay AR, Guray Y, Yilmaz MB, Boyaci AA, Sasmaz H, Korkmaz S, Kutuk E. Levels of soluble adhesion molecules in various clinical presentations of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 2004;96:235-240.
124. Gibbons GH. Endothelial function as a determinant of vascular function and structure: a new therapeutic target. *Am J Cardiol* 1997;79:3-8.
125. Chrysant SG. Vascular remodelling: the role of angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Am Heart J* 1998;135:S21-S30.
126. Mombouli JV. ACE inhibition, endothelial function and coronary artery lesions. *Drugs* 1997;54:S12-S22.
127. Meyer D, Girma JP. Von Willebrand Factor: Structure and function. *Thromb Haemost* 1993;70:99-104.
128. Lip GYH, Blann A. Von Willebrand factor: a marker of endothelial dysfunction in vascular disorders?. *Cardiovasc Res* 1997;34:255-265.
129. Felmeden DC, Spencer CG, Chung NA, Belgore FM, Blann AD, Beevers DG, Lip GY. Relation of thrombogenesis in systemic hypertension to angiogenesis and endothelial damage/dysfunction. *Am J Cardiol* 2003;92:400-405.
130. Epstein FH. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998;338:1043-1050.
131. Tsai MY. Moderate hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease. *J Lab Clin Med* 2000;135:16-25.
132. Fonseca V, Guba SC, Fink LM. Hyperhomocysteinemia and the endocrine system: implications for atherosclerosis and thrombosis. *Endocr Rev* 1999;20:738-759.
133. Gensini GF, Comeglio M, Colella A. Classical risk factors and emerging elements in the risk profile for coronary artery disease. *Eur Heart J* 1998;19:A53-A61.
134. Sharma P, Senthilkumar RD, Brahmachari V, Sundaramoorthy E, Mahajan A, Sharma A, Sengupta S. Mining literature for a comprehensive pathway analysis: A case study for retrieval of homocysteine related genes for genetic and epigenetic studies. *Lipids Health Dis* 2006;5:1.

135. Christodoulakos G, Panoulis C, Rizos D, Moustakarias T, Phocas I, Creatsas G. Homocysteine and folate levels in postmenopausal women. *Maturitas* 2001;39:161-167.
136. Fernandez-Miranda C, de la Calle M, Manuel Bris J, Muelas M, Gomez P, Diaz-Rubio P. Influencia del estado menopáusico sobre los niveles plasmáticos de homocisteína. *Med Clin* 2001;116:206-208.
137. Barnabei VM, Phillips TM, Hsia J. Plasma homocysteine in women taking hormone replacement therapy: the Postmenopausal Estrogen/Progestin Interventions (PEPI) Trial. *J Womens Health Gend Based Med* 1999;8:1167-1172.
138. Ventura P, Cagnacci A, Malmusi S, Panini R, Baldassari F, Arangin C, Volpe A, Salvioli G. Continuous combined hormone replacement therapy with or 17 beta-estradiol and norethisterone acetate improves homocysteine metabolism in postmenopausal women. *Menopause* 2001;8:252-258.
139. Christen WG, Ajani UA, Glynn RJ, Hennekens CH. Blood levels of homocysteine and increased risks of cardiovascular disease. *Arch Intern Med* 2000;160:422-434.
140. Eikelboom JW, Lonn E, Genest J Jr, Hankey G, Yusuf S. Homocysteine and cardiovascular disease: a critical review of the epidemiologic evidence. *Ann Intern Med* 1999;131:363-375.
141. Coppola A, Astarita C, Liguori E, Fontana D, Oliviero M, Esposito K, Coppola L, Giugliano D. Impairment of coronary circulation by acute hyperhomocysteinaemia and reversal by antioxidant vitamins. *J Intern Med* 2004;256:398-405.
142. Juhan-Vague I, Alessi MC, Vague P. Thrombogenic and fibrinolytic factors and cardiovascular risk in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann Med* 1996;28:371-380.
143. Ernst E, Koenig W. Fibrinogen as a cardiovascular risk factor: a meta-analysis and review of the literature. *Ann Intern Med* 1993;118:956-963.
144. Aasvee K, Jauhiainen M, Kurvinen E, Tur I, Sundvall J, Roovere T, Baburin A. Determinants of risk factors of atherosclerosis in the postinfarction period: the Tallinn MI study. *Scand J Clin Lab Invest* 2006;66:191-199.
145. Ames PR, Alves J, Pap AF, Ramos P, Khamashta MA, Hughes GR. Fibrinogen in systemic lupus erythematosus: more than an acute phase reactant?. *J Rheumatol* 2000;27:1190-1195.
146. Paramo JA, Rodriguez JA, Orbe J. Fibrinogen. An old hemostatic protein with a new function: non-invasive marker of subclinical atherosclerosis. *Med Clin* 2005;124:790-794.
147. Conard J. Modifications of the hemostatic balance during estrogen treatments: menopause and its treatment. *Thérapie* 1999;54:363-367.

148. Frohlich M, Schunkert H, Hense HW, Tropitzsch A, Doring A, Riegger Ga, Koenig W. Effects of hormone replacement therapies on fibrinogen and plasma viscosity in postmenopausal women. *Br J Haematol* 1998;100:577-581.
149. Rosenson RS, Tangney CC, Mosca LJ. Hormone replacement therapy improves cardiovascular risk by lowering plasma viscosity in postmenopausal women. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1902-1905.
150. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Rebuffi AG, Pepys MB, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 1994;331:417-424.
151. De Beer FC, Hind CR, Fox KM, Allan RM, Maseri A, Pepys MB. Measurement of serum C-reactive protein concentration in myocardial ischaemia and infarction. *Br Heart J* 1992;47:239-243.
152. Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N. Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001;285:2481-2485.
153. Llorca J, Gonzalez Quiros M, Sampedro I, Garcia Unzueta MT, Berrazueta JR. Reproducibility of C-reactive protein analyses. *Rev Esp Cardiol* 2002;55:1101-1104.
154. Ridker PM, Glynn RJ, Hennekens CH. C-reactive protein adds to the predictive value of total and HDL cholesterol in determining risk of first myocardial infarction. *Circulation* 1998;97:2007-2011.
155. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 1998;97:425-428.
156. Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 2004;350:1378-1397.
157. Berg K. A new serum type system in man: the Lp system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 1963;59:369-382.
158. Scanu AM. Lipoprotein (a). A potential bridge, between the fields of atherosclerosis and thrombosis. *Arch Pathol Lab Med* 1988;112:1045-1047.
159. Albers JJ, Hazzard WR. Immunochemical quantification of human plasma Lp(a) lipoprotein. *Lipids* 1973;9:15-26.

160. Hoefler G, Harnoncourt F, Paschke E, Mirti W, Pfeiffer KH, Kostner G. Lipoprotein Lp(a). A risk factor for myocardial infarction. *Arteriosclerosis* 1988;8:398-401.
161. Rhoads GG, Dahlen G, Berg K, Morton NE, Dannenberg AL. Lp(a) lipoprotein as a risk factor for myocardial infarction. *JAMA* 1986;256:2540-2554.
162. Nogués X, Sentí M, Pedro-Botet J, Rubiés-Prat J, Vidal-Barraquer F. Serum lipoprotein (a) levels in men with peripheral vascular disease. *Angiology* 1991;42:659-664.
163. Sandkamp M, Funke H, Schulte H, Köhler E, Assmann G. Lipoprotein (a) is an independent risk for myocardial infarction at a young age. *Clin Chem* 1990;36:20-23.
164. Nogués X, Sentí M, Pedro-Botet J, Molina L, Serrat R, Pons S, Rubiés-Prat J. Enfermedad cardíaca coronaria y lipoproteína (a): su relación con otros factores lipídicos de riesgo cardiovascular. *Med Clin* 1992;98:171-174.
165. Willich SN, Lewis M, Lowel H, Arntz HR, Schubert F, Schroder R. Physical exertion as a trigger of acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 1993;329:1684-1690.
166. Jouven X, Empana JP, Schwartz PJ, Desnos M, Courbon D, Ducimetiere P. Heart-rate profile during exercise as a predictor of sudden death. *N Engl J Med* 2005;352:1951-1958.
167. Pate RR, Pratt M, Blair SN, Haskell WL, Macera CA, Bouchard C, Buchner D, Ettinger W, Heath GW, King AC. Physical activity and public health. A recommendation from the centers for disease control and prevention and the american college of sports medicine. *JAMA* 1995;273:402-407.
168. Schuler G, Hambrecht R, Schlierf G, Niebauer J, Hauer K, Neumann J, Hoberg E, Drinkmann A, Bacher F, Grunze M. Regular physical exercise and low fat diet: effects on progression of coronary artery disease. *Circulation* 1992;86:1-11.
169. Hambrecht R, Niebauer J, Marburger C, Grunze M, Kalberer B, Hauer K, Schlierf G, Kubler W, Schuler G. Various intensities of leisure time physical activity in patients with coronary artery disease: effects on cardiorespiratory fitness and progression of coronary atherosclerotic lesions. *J Am Coll Cardiol* 1993;22:468-477.
170. Whitney RJ. The measurement of volume changes in human limbs. *J Physiol* 1953;121:1-27.
171. Kroese AJ. Reactive hyperaemia in the human calf after long lasting ischaemia. A study with strain gauge plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 1976;36:739-746.
172. Kroese AJ. The effect of inactivity on reactive hyperaemia in the human calf. *Scand J Clin Lab Invest* 1977;37:53-58.
173. Kroese AJ. Reactive hyperaemia in the calf of trained and untrained subjects, a study with strain gauge plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 1977;37:111-115.

174. Wang J, Wolin Ms, Hintze TH. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ Res* 1993;73:829-838.
175. Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol* 1996;28:1652-1660.
176. Poveda JJ, Riestra A, Salas E, Cagigas ML, Amado JA, Berrazueta JR. Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute and long-term physical training. *Eur J Clin Invest* 1997;27:967-971.
177. Maiorana A, O'Driscoll G, Taylor R, Green D. Exercise and the nitric oxide vasodilator system. *Am J Sports Med* 2003;33:1013-1035.
178. Koller A, Huang A, Sun D, Kaly G. Exercise training augments flow-dependent dilation in rat skeletal muscle arterioles: role of endothelial nitric oxide and prostaglandins. *Circ Res* 1995;76:544-550.
179. Graham DA, Rush JW. Exercise training improves aortic endothelium-dependent vasorelaxation and determinants of nitric oxide bioavailability in spontaneously hypertensive rats. *J Appl Physiol* 2004;96:2088-2096.
180. Ishibashi M, Egashira K, Hiasa K, Inoue S, Ni W, Zhao Q, Usui M, Kitamoto S, Ichiki T, Takeshita A. Antiinflammatory and antiarteriosclerotic effects of pioglitazone. *Hypertension* 2002;40:687-693.
181. Bussolati B, Mariano F, Migliori M, Camussi G. Nitric oxide/platelet activating factor cross-talk in mesangial cells modulates the interaction with leukocytes. *Kidney Int* 2002;62:1322-1331.
182. Chen R, Iwai M, Wu L, Suzuki J, Min LJ, Shiuchi T, Sugaya T, Liu HW, Cui TX, Horiuchi M. Important role of nitric oxide in the effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor imidapril on vascular injury. *Hypertension* 2003;42:542-547.
183. Palumbo B, Oguogho A, Fitscha P, Sinzinger H. Prostaglandin E1-therapy reduces circulating adhesion molecules (ICAM-1, E-selectin, VCAM-1) in peripheral vascular disease. *Vasa* 2000;29:179-85.
184. Semaan HB, Gurbel PA, Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist JF, Horne BD, Serebruany VL. Soluble VCAM-1 and E-selectin, but not ICAM-1 discriminate endothelial injury in patients with documented coronary artery disease. *Cardiology* 2000;93:7-10.
185. Aggeli C, Antoniadis C, Cosma C, Chrysohoou C, Tousoulis D, Ladis V, Karageorga M, Pitsavos C, Stefanadis C. Endothelial dysfunction and inflammatory process in transfusion-dependent patients with beta-thalassemia mayor. *Int J Cardiol* 2005;105:80-84.

186. Wang JS. Intense exercise increases shear-induced platelet aggregation in men through enhancement of von Willbrand factor binding, glycoprotein IIb/IIIa activation, and P-selectin expression on platelets. *Eur J Appl Physiol* 2004;91:741-747.
187. Fenster BE, Tsao PS, Rockson SG. Endothelial dysfunction: clinical strategies for treating oxidant stress. *Am Heart J* 2003;146:218-226.
188. Mailloux A, Deslandes B, Vaubourdolle M, Baudin B. Captopril and enalaprilat decrease antioxidant defences in human endothelial cells and are unable to protect against apoptosis. *Cell Biol Int* 2003;27:825-830.
189. Thompson PD, Tsongalis GJ, Ordovas JM, Seip RL, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L, Moyna N. Angiotensin-converting enzyme genotype and adherence to aerobic exercise training. *Prev Cardiol* 2006;9:21-24.
190. Iwanaga Y, Nishi I, Ono K, Takagi s, Tsutsumi Y, Ozaki M, Noguchi T, Takaki H, Iwai N, Nonogi H, Goto Y. Angiotensin-converting enzyme genotype is not associated with exercise capacity or the training effect of cardiac rehabilitation in patients after acute myocardial infarction. *Circ J* 2005;69:1315-1319.
191. Li-Saw-Hee FL, Blann AD, Edmunds E, Gibbs CR, Lip GY. Effect of acute exercise on the raised plasma fibrinogen, soluble P-selectin and von Willebrand factor levels in chronic atrial fibrillation. *Clin Cardiol* 2001;24:409-414.
192. Eriksson-Berg M, Egberg N, Eksborg S, Schenck-Gustafsson K. Retained fibrinolytic response and no coagulation activation after acute physical exercise in middle-aged women with previous myocardial infarction. *Thromb Res* 2002;105:481-486.
193. Kvernmo HD, Osterud B. The effect of physical conditioning suggests adaptation in procoagulant and fibrinolytic potential. *Thromb Res* 1997;88:559-569.
194. Konig D, Bisse E, Deibert P, Muller HM, Wieland H, Berg A. Influence of training volume and acute physical exercise on the homocysteine levels in endurance-trained men: interactions with plasma folate and vitamin B12. *Ann Nutr Metab* 2003;47:114-118.
195. Gaume V, Mouglin F, Figard H, Simon-Rigaud ML, N'Guyen UN, Callier J, Kantelip JP, Berthelot A. Physical training decreases total plasma homocysteine and cysteine in middle-aged subjects. *Ann Nutr Metab* 2005;49:125-131.
196. Gibbs CR, Blann AD, Edmunds E, Watson RD, Lip GY. Effects of acute exercise on hemorheological, endothelial, and platelet markers in patients with chronic heart failure in sinus rhythm. *Clin Cardiol* 2001;24:724-729.
197. Hammett CJ, Prapavessis H, Baldi JC, Varo N, Schoenbeck U, Ameratunga R, French JK, White HD, Stewart RA. Effects of exercise training on 5 inflammatory markers associated with cardiovascular risk. *Am Heart J* 2006;151:307-317.

198. Pitsavos C, Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Skoumas J, Zeimbekis A, Kokkinos P, Stefanadis C, Toutouzas PK. Association of leisure-time physical activity on inflammation markers (C-reactive protein, white cell blood count, serum amyloid A, and fibrinogen) in healthy subjects (from the ATTICA study). *Am J Cardiol* 2003;91:368-370.
199. Mattusch F, Dufaux B, Heine O, Mertens I, Rost R. Reduction of the plasma concentration of C-reactive protein following nine months of endurance training. *Int J Sports Med* 2000;21:21-24.
200. Tomaszewski M, Charchar FJ, Przybycin M, Crawford L, Wallace AM, Gosek K, Lowe GD, Zukowska-Szzechowska E, Grzeszczak S, Sattar N, Dominiczak AF. Strikingly low circulating CRP concentrations in ultramarathon runners independent of markers of adiposity: how low can you go?. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:1640-1644.
201. Lippi G, Shena F, Salvagno GL, Montagnana M, Ballestrieri F, Guido GC. Comparison of the lipid profile and lipoprotein (a) between sedentary and highly trained subjects. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:322-326.
202. Kishali NF, Imamoglu O, Kaldirimci M, Akyol P, Yuldirim K. Comparison of lipid and lipoprotein values in men and women differing in training status. *Int J Neurosci* 2005;115:1247-1257.
203. Marti B, Suter E, Riesen WF, Tschopp A, Wanner HU, Gutzwiller F. Effects of long-term, self-monitored exercise on the serum lipoprotein and apolipoprotein profile in middle-aged men. *Atherosclerosis* 1990;81:19-31.
204. Oyelola OO, Rufai MA. Plasma lipid, lipoprotein and apolipoprotein profiles in Nigerian University athletes and non-athletes. *Br J Sports Med* 1993;27:271-274.
205. Magkos F, Wright DC, Patterson BW, Mohammed BS, Mittendorfer B. Lipid metabolism response to a single, prolonged bout of endurance exercise in healthy young men. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006;290:E355-E362.
206. Patterson GC, Whelan RF. Reactive hyperaemia in the human forearm. *Clin Sci* 1955;14:197-211.
207. Cook JN, DeVan AE, Schleifer JL, Antón MM, Cortez-Cooper MY, Tanaka H. Arterial compliance of rowers: implications for combined aerobic and strength training on arterial elasticity. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006;290:H1596-H1600.
208. Bumenthal JA, Emery CF, Madden DJ, George LK, Coleman RE, Riddle MW, McKee DC, Reasoner J, Williams RS. Cardiovascular and behavioral effects of aerobic exercise training in healthy older men and women. *J Gerontol* 1989;44:M147-M157.

- 209.** Fatouros IG, Tournis S, Leontsini D, Jamurtas AZ, Sxina M, Thomakos P, Manousaki M, Douroudos I, Taxildaris K, Mitrakou A. Leptin and adiponectin responses in overweight inactive elderly following resistance training and detraining are intensity related. *J Clin Endocrinol Metab* 2005;90:5970-5977.
- 210.** Neumayr G, Ludwiczek O, Hoertnagl H, Pfister R, Mitterbauer G, Moschen A, Novick D, Rubinstein M, Tilg H. The impact of prolonged strenuous endurance exercise on interleukin 18 and interleukin 18 binding protein in recreational cyclists. *Int J Sports Med* 2005;26:836-840.
- 211.** Kohut ML, McCann DA, Russell DW, Konopka DN, Cunnick JE, Franke WD, Castillo MC, Reighard AE, Vanderah E. Aerobic exercise, but not flexibility/resistance exercise, reduces serum IL-18, CRP, and IL-6 independent of beta-blocker, BMI, and psychosocial factors in older adults. *Brain Behav Immun* 2006;20:201-209.
- 212.** Vincent KR, Braith RW, Bottiglieri T, Vincent HK, Lowenthal DT. Homocysteine and lipoprotein levels following resistance training in older adults. *Prev Cardiol* 2003;6:197-203.
- 213.** Kujala UM, Ahotupa M, Vasankari T, Kaprio J, Tikkanen MJ. Low LDL oxidation in veteran endurance athletes. *Scand J Med Sci Sports* 1996;6:303-308.
- 214.** Alvarez R, Terrados N, Ortolano R, Iglesias-Cubero G, Reguero JR, Batall A, Cortina A, Fernandez-Garcia B, Rodriguez C, Braga S, Alvarez V, Coto E. Genetic variation in the renin-angiotensin system and athletic performance. *Eur J Appl Physiol* 2000;82:117-120.
- 215.** Garcia-Unzueta MT, Gutierrez-Sanchez JB, de Mier I, Amado JA, Berrazueta JR. Autoantibodies against oxidized LDL and serum total antioxidant status in active cyclists and ex-cyclists. *Horm Metab Res* 2003;35:541-545.
- 216.** Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Vuorimaa T, Ahotupa M. Effects of acute prolonged exercise on-serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radic Biol Med* 1997;22:509-513.
- 217.** Subudhi AW, Davis SL, Kipp RW, Askew W. Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001;11:32-41.
- 218.** Bergholm R, Makimattila S, Valkonen M, Liu ML, Lahdenpera S, Taskinen MR, Sovijarvi A, Malmberg P, Yki-Jarvinen H. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation in vivo. *Atherosclerosis* 1999;145:341-349.
- 219.** Newcomer SC, Leuenberger UA, Hogeman CS, Proctor DN. Heterogeneous vasodilator responses of human limbs: influence of age and habitual endurance training. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289:H308-H315.

220. Bertovic DA, Waddell TK, Gatzka CD, Cameron JD, Dart AM, Kingwell BA. Muscular strength training is associated with low arterial compliance and high pulse pressure. *Hypertension* 1999;33:1385-1391.
221. Bode-Boger SM, Boger RH, Schroder EP, Frolich JC. Exercise increases systemic nitric oxide production in men. *J Cardiovasc Risk* 1994;1:173-178.
222. Delp MD. Effects of exercise training on endothelium-dependent peripheral vascular responsiveness. *Med Sci Sports Exerc* 1995;27:1152-1157.
223. Giannattasio C, Failla M, Grappiolo A, Calchera I, Grieco N, Carugo S, Bigoni M, Randelli P, Peretti G, Mancina G. Effects of physical training of the dominant arm on ipsilateral radial artery distensibility and structure. *J Hypertens* 2001;19:71-77.
224. Inoue N, Ramasamy S, Fukai T, Nerem RM, Harrison DG. Shear stress modulates expression of Cu/Zn superoxide dismutase in human aortic endothelial cells. *Circ Res* 1996;79:32-37.
225. Poveda JJ, Berrazueta JR, Ochoteco A, Montalbán C, García Unzueta MT, Fernández C, Peña N, Amado JA. Age-related responses of vasoactive factors during exercise. *Horm Metab Res* 1998;30:668-672.
226. Maeda S, Miyauchi T, Kakiyama T, Sugawara J, Iemitsu M, Irukayama-Tomobe Y, Murakami H, Kumagai Y, Kuno S, Matsuda M. Effects of exercise training of 8 weeks and detraining on plasma levels of endothelium-derived factors, endothelin-1 and nitric oxide, in healthy young humans. *Life Sci* 2001;69:1005-1016.
227. Van Gurp PJ, Rongen GA, Lenders JW, Al Nabawy AK, Timmers HJ, Tack CJ. Sustained hyperglycaemia increases muscle blood flow but does not affect sympathetic activity in resting humans. *Eur J Appl Physiol* 2005;93:648-654.

8. ADDENDUM

M. T. García-Unzueta¹
 J. B. Gutiérrez-Sánchez²
 I. de Mier²
 J. A. Amado³
 J. R. Berrazueta²

Autoantibodies against Oxidized LDL and Serum Total Antioxidant Status in Active Cyclists and Ex-Cyclists

Abstract

There is an apparent paradox between the benefits of aerobic exercise and the potentially deleterious effects of increased free radicals and decreased circulating antioxidants generated during exercise. To assess the oxidative/antioxidative status in competitive cyclists and ex-cyclists, we measured two markers not well studied in these situations, serum total antioxidant status (TAS) and antibodies against oxidized LDL (AuAb-ox-LDL) in 18 competitive male cyclists, 10 ex-competitive cyclists and 14 healthy males. AuAb-ox-LDL was evaluated by enzyme immunoassay, and serum TAS concentration was analyzed by spectrophotometry. Ex-cyclists had serum TAS levels statistically higher than the control group and cyclists group ($p = 0.001$ and $p < 0.001$, respectively). Active sportsmen showed significantly less AuAb-ox-LDL than healthy sedentary males, while there was a non-significant

trend in the ex-cyclists to have lower AuAb-ox-LDL than the corresponding control group. AuAb-ox-LDL levels were not statistically different between the groups of active and previously active sporting men. There was a positive correlation between TAS and LDL-cholesterol in active cyclists under heavy training. In the ex-cyclist group, there was a negative correlation between serum TAS and the time elapsed since they had ended the competition. Competitive cycling decreases AuAb-ox-LDL levels, suggesting that it may decrease ox-LDL levels. After ending physical training, antioxidative status remains increased for at least one year, but the effect on AuAb-ox-LDL levels is lost.

Key words

Training Exercise · Oxidative Stress · Serum Total Antioxidant Status · Oxidized LDL · Autoantibodies Against ox-LDL · Cyclists · Ex-Cyclists

Introduction

Physical inactivity increases the risk of cardiovascular disease [1]. Regular exercise is beneficial to health as demonstrated by the association between high levels of physical activity and low coronary morbidity and mortality [2, 3]. The cardiovascular benefits of exercise are a consequence of beneficial changes in circulating lipids and lipoproteins, body weight, blood pressure, insulin sensitivity, coagulation parameters, and endothelial function [4–6].

There is an apparent paradox between the benefits of aerobic exercise on cardiovascular risk factors and the potentially deleterious effects of increased free radicals [7] and decreased circulating antioxidant concentrations generated during exercise [8]. Heavy exercise increases the rate of oxygen consumption in humans, but increased physical work capacity and work efficiency with aerobic training means that the same amount of external work can be performed at lower oxygen consumption, reducing the exercise-induced oxidative stress [9]. However, in contrast, intense intervals of exercise cause transient hypoxia and reoxygenation that induce oxidative stress [10–12]. Under normal cir-

Affiliation

¹ Clinical Biochemistry

² Cardiology

³ Endocrinology Services, Universitario M. de Valdecilla Hospital, University of Cantabria, Santander, Spain

Correspondence

Prof. J. R. de Berrazueta · Professor of Cardiology · Servicio de Cardiología · Hospital Universitario M. de Valdecilla · Avda/Valdecilla s/n · Santander 39008 · Spain · Phone: +34(942)201334 · Fax: +34(942)201334 · E-Mail: jose.berrazueta@unican.es

Received 13 December 2002 · Accepted after second revision 6 May 2003

Bibliography

Horm Metab Res 2003; 35: 541–545 © Georg Thieme Verlag Stuttgart · New York · ISSN 0018-5043

cumstances, the body has adequate antioxidant reserves to cope with increased production of free-radical production. However, there is sometimes an imbalance due to excessive free-radical production or high antioxidant consumption [10].

Total antioxidant status (TAS) of serum is contributed by known and unknown circulating antioxidants, and has been found to be a good index of oxidative stress [13–15]. It reflects antioxidant capacity, and can be determined using simple methods [13,15].

On the other hand, oxidative modification of low-density lipoproteins (ox-LDL) greatly increases their atherogenicity and it plays an essential role in the development of atherosclerosis [15]. Oxidative modification of LDL is induced by oxygen free radicals, but the organism is protected from this process by antioxidant defense mechanisms [15]. After ox-LDL formation, antibodies against this form of LDL may occur. Auto-antibodies against Ox-LDL (AuAb-ox-LDL) may be a marker of the vascular impact of LDL oxidation *in vivo* [16]. Although neither their role in the pathogenesis of atherosclerosis nor their clinical significance are clear [17,18], some authors consider that AuAb-ox-LDL titers can not only predict the presence of atherosclerotic coronary artery disease, but may also be a marker of plaque instability and progression of atherosclerosis [19,20].

Cycling is a sport characterized by heavy endurance physical training with bouts of intense physical activity. The aim of this study was to assess the oxidative/antioxidative status in highly-trained competitive cyclists and ex-cyclists using two markers not well studied in these situations, serum TAS and AuAb-ox-LDL.

Material and Methods

The study protocol was approved by the Marqués de Valdecilla University Hospital Ethics Committee; informed consent was obtained from all participants before enrollment. The study included three different groups of healthy male subjects.

Group I: 18 competitive male cyclists aged 21 ± 3 years (range 18–34 years). All had been training for at least three years (7.7 ± 2.5 years; range 3–14 years) and for an average of 23.1 ± 8.2 hours per week (range 14–35 hours/week). All performed the study during the competitive season.

Group II: 10 ex-competitive male cyclists aged 35 ± 3 years (range 28–41 years). All had ceased competitive cycling at least one year before (mean 4.8 ± 3.5 years, range 1–12 years). They had been training an average of 28.8 ± 5.1 hours per week (range 13–29 hours/week) for an average of 16.2 ± 3.4 years (range 11–21 years). All did less than 6 hours of regular exercise per week (2.6 ± 1.9 hours/week, median 1.5 and range 1–6).

Group III: 14 healthy males that were matched for age with each sports group. Data on control groups are shown in the Table 1. They were students at the University of Cantabria or medical residents at Marqués de Valdecilla University Hospital. All did less than 6 hours of regular exercise a week (2.5 ± 1.5 hours/week, median 2 and range 1–6).

All participants underwent physical examination, a complete hemogram, basic biochemistry tests, and ECG at rest and under exertion. All of the results were normal in all cases. None of the participants had been taking any medication. Exclusion criteria were smoking, hypertension, diabetes mellitus, altered lipid profile, body mass index over 25 and liver, thyroid, pulmonary, heart or any other systemic disease.

Biochemical study

Fasting venous blood samples, for general biochemical analysis and specific determinations, were obtained from an antecubital vein between 8.00 and 9.00 a.m. Glucose, creatinine, ALT, total cholesterol, triglycerides, and HDL-cholesterol were measured by automated methods on an ADVIA 1650 Chemistry System from Bayer Diagnostics (Bayer Corporation, Tarrytown, NY, USA) using the reagents supplied by Bayer. Leukocytes, platelets, hemoglobin and hematocrit were measured by a Coulter S+ Counter (Coulter, Hialeah, FL USA). LDL-Cholesterol was calculated using the Friedewald equation. AuAb-ox-LDL were measured using a commercial kit (O-LAB, BIOMEDICA Gesellschaft mbH, Divischgasse, Austria). Intra- and inter-precision coefficients were 3.8% and 6.1%, respectively. Serum TAS concentration was analyzed by spectrophotometry in a Hitachi 704 (Hitachi, Tokyo, Japan) using a commercial kit (Randox Laboratories, Antrim, UK).

Statistical analysis

Results were analyzed using SPSS (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA). Parametric and non-parametric distribution of the variables under study was established using the Kolmogorov-Smirnov test. All data were expressed as the mean \pm standard deviation, and the median and range were also obtained for non-parametric variables. Due to the difference in age between cyclist and ex-cyclist groups, we had one control group for every group. Differences between every sporting group and the control group were evaluated in all cases with non-parametric tests due to the small number of cases ($n < 30$). Specifically, differences were evaluated by Mann-Whitney test and correlations with Spearman test. Differences with a p -value < 0.05 were considered significant.

Results

Table 1 shows the anthropometric and analytical data at entry. Plasma creatinine levels were significantly lower in the cyclists than in the control group, while basal glucose levels in ex-cyclist group were significantly higher than in the control group. The cyclist group had cholesterol and LDL-cholesterol levels significantly lower than the control group. The ex-cyclist group did not show any differences in lipids compared with the corresponding control group. Comparing cyclists with ex-cyclists, age and BMI were significantly higher in the ex-cyclist group ($p < 0.001$ in all cases), and cholesterol and LDL-cholesterol were significantly lower in the active cyclist group ($p = 0.04$ and $p = 0.007$ respectively).

Table 2 shows serum TAS and AuAb-ox-LDL results. Serum TAS levels were not different comparing cyclists with the corresponding control group. However, ex-cyclists had serum TAS

Table 1 Basal anthropometric and biochemical data at entry in cyclist, ex-cyclist and control groups

	Control n = 14	Cyclist n = 18	p	Control n = 12	Ex-Cyclist n = 10	p
Age (Years)	23 ± 2	21 ± 3	0.08	34 ± 7	35 ± 3	0.7
Training (hours/week)	–	23.7 ± 5.5		–	–	
Training (years)	–	7.7 ± 2.5		–	–	
BMI (kg/m ²)	20 ± 2	20 ± 1	0.1	24 ± 1	23 ± 1	0.059
Glucose (mg/dl)	79 ± 5	80 ± 10	0.8	79 ± 4	83 ± 3	0.04
Creatinine (mg/dl)	1.14 ± 0.06	1.05 ± 0.12	0.01	1.18 ± 0.08	1.09 ± 0.12	0.06
ALT (U/L)	27 ± 9	30 ± 14	0.8	21 ± 7	21 ± 8	0.9
Cholesterol (mg/dl)	182 ± 25	159 ± 26	0.05	184 ± 21	189 ± 38	0.9
Triglycerides (mg/dl)	61 ± 16	71 ± 39	0.6	75 ± 38	56 ± 29	0.1
HDL-Cholesterol (mg/dl)	48 ± 14	48 ± 12	0.7	46 ± 10	48 ± 8	0.6
LDL-Cholesterol (mg/dl)	122 ± 23	97 ± 19	0.01	122 ± 18	132 ± 31	0.5
Leukocytes (cells × 10 ³ /mm ³)	6.5 ± 2.3	6.1 ± 1.2	0.7	5.3 ± 0.6	4.8 ± 0.8	0.09
Platelets (cells × 10 ³ /mm ³)	236 ± 27	211 ± 39	0.1	214 ± 44	211 ± 33	0.9
Hemoglobin (g/dl)	15.2 ± 0.9	14.8 ± 0.9	0.2	14.7 ± 0.8	15.2 ± 0.6	0.3

Table 2 Antibodies against oxidized LDL and TAS levels in cyclist, ex-cyclist and control groups

	Control n = 14	Cyclists n = 18	p	Control n = 12	Ex-Cyclists n = 10	p
AuAb-ox-LDL (mU/ml)	1 357 ± 861 1 282 (853–2814)	854 ± 712 997 (98–2709)	0.049	889 ± 808 596 (73–2347)	590 ± 570 437 (77–1942)	0.5
TAS (mmol/l)	1 022 ± 127 1 040 (840–1250)	1 007 ± 144 985 (780–1360)	0.77	970 ± 127 930 (860–1250)	1 223 ± 159 1 180 (1110–1650)	0.001

levels statistically higher than the corresponding control group and than the cyclists group ($p = 0.001$ and $p < 0.001$ respectively).

Active sportsmen showed significant less AuAb-ox-LDL levels compared with their sedentary control group. There was a non-significant trend in the ex-cyclist group towards lower AuAb-ox-LDL than the corresponding control group. AuAb-ox-LDL levels were not statistically different between currently and previously active sportsmen.

In active highly-training cyclists, there was a positive correlation between serum TAS and LDL-cholesterol ($r = 0.66$, $p = 0.009$) that did not appear in the control group or ex-cyclist group (Fig. 1). Interestingly, there was a negative correlation between serum TAS and time elapsed in the ex-cyclist group since ending their competitive activity ($r = -0.64$, $p = 0.046$).

Discussion

Our study confirms that active cyclists present beneficial changes in circulating lipids and lipoproteins [21,22]. Although exercise has been demonstrated to increase HDL cholesterol and decrease LDL cholesterol [23,24], the cyclists and ex-cyclists in our study did not show this increase in HDL cholesterol; however, the level of LDL cholesterol in active cyclists was lower than in controls and ex-cyclists. Curiously, we also found that cyclists with higher levels of LDL cholesterol had higher levels of TAS.

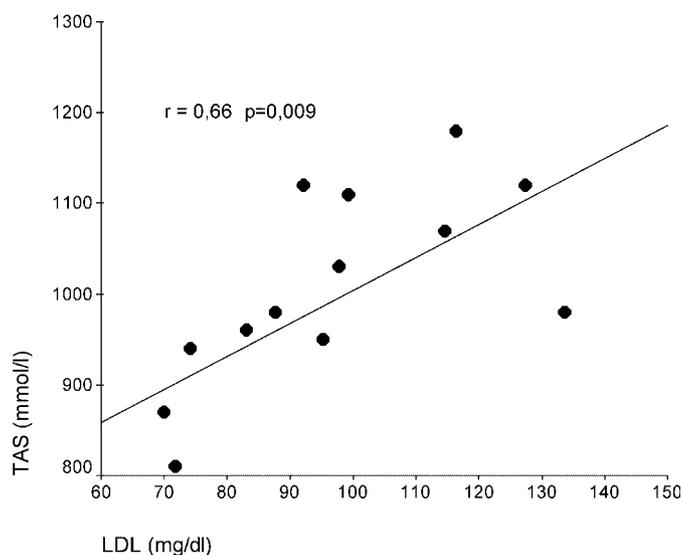


Fig. 1 Correlation between TAS and LDL cholesterol in the active cyclist group.

This finding might suggest that they can increase antioxidant activity as LDL cholesterol raises while this is not found in ex-cyclists or normal subjects.

AuAb-ox-LDL levels were lower in the active cyclists than in their controls [21,22]. Although the production of free radicals is excessive during acute strenuous aerobic exercise [25], and this in-

duces an acute response with increased ox-LDL [26], it seems that somehow competitive cycling training prevents the induction of high levels of AuAb-ox-LDL. This may be due to a combination of different favorable factors found in these sportsmen (chronic endurance exercise, diet, vitamin status, metabolic or genetic factors, etc.) [13]. In fact, no correlation was found between hours of training and AuAb-ox-LDL levels (data not shown), so training alone does not explain this finding.

It has been reported that several years of intensive physical exercise training is associated with reduced levels of oxidized LDL [27]. Vasankari et al. [28] found an increase of HDL-cholesterol and improvement in the quality of circulating LDL (less oxidized LDL) after a long training program [28]. The lower susceptibility of LDL to oxidation in athletes could explain the lower levels of AuAb-ox-LDL. This effect is probably lost after becoming sedentary as shown in ex-cyclists, whose antibody titers were not different from controls. Our results are contrary to those reported by Pincemail et al. [29] in top soccer and basketball players. These authors reported that these sportsmen had higher than normal levels of AuAb-ox-LDL titers after 4 months of competition measured with the same commercial kit that we used. As they propose in their paper, the difference with our results may be explained by the different athletic characteristics of the subjects studied since our cyclists had been submitted for years to chronic endurance exercise. In any case, more studies are needed to solve this point.

There are contradictory results in the literature about the status of antioxidants in humans under heavy training. While some authors found an increase of antioxidant levels during training [30,31], others found that intense aerobic training decreased circulating antioxidant concentrations [8,32]. In elite alpine ski racers, antioxidants values were highest before the training period and declined over a period of intense training while elevations in markers of oxidative stress were not evident [32]. In our study, sedentary former cyclists had higher (26%) TAS than the sedentary control group, which could be explained by the lower production of exercise-induced free radicals in the presence of an active ingestion or output of antioxidants. Clearly, this is a time-limited effect since TAS levels decreased as time elapsed after competitive activity ceased. There was no difference in TAS between cyclist and the sedentary control groups. This suggests that the oxidative/antioxidative status is in equilibrium in active sportsmen, as reported by others [29].

Our data indicate that active cycling training does not deteriorate the balance between oxidative stress and antioxidative status, while decreases AuAb-ox-LDL, suggesting that it decreases antigen (ox-LDL) levels or, improbably, the specific immune reaction against ox-LDL. After stopping exercise, antioxidative status remains increased for at least one year, but the effect on AuAb-ox-LDL levels is lost.

Acknowledgements

This study was supported by a grant from Valdecilla Foundation Exp: (Exp:A05/01), Santander, Spain. We gratefully acknowledge the technical assistance of Ms. B. Paule and Ms C. Rentería.

References

- Morris JN, Kagan A, Pattison DC, Gardner MJ. Incidence and prediction of ischaemic heart-disease in London busmen. *Lancet* 1966; 2: 553–559
- Roserman RH, Brand RJ, Jenkins D, Friedman M, Straus R, Wurm M. Coronary heart disease in the Western Collaborative Group. *JAMA* 1975; 233: 872–877
- Cassel J, Heyden S, Bartel AG et al. Occupation and physical activity and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1971; 128: 920–928
- Durstine JL, Haskell WL. Effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins. *Exerc Sport Sci Rev* 1994; 22: 477–521
- Liu M, Bergholm R, Mäkimattila S, Lahdenpera S, Valkonen M, Hilden H, Yki-Järvinen H, Taskinen M. A marathon run increases the susceptibility of LDL to oxidation *in vitro* and modifies plasma antioxidants. *Am J Physiol* 1999; 276: E1083–E1091
- Kishimoto H, Taniguchi A, Fukushima M, Sakai M, Tokuyama K, Oguma T, Nin K, Nagayta I, Hayashi R, Kawano M, Hayashi K, Tsukamoto Y, Okumura T, Nagasaka S, Mizutani H, Nakai Y. Effect of short-term low-intensity exercise on insulin sensitivity, insulin secretion, and glucose and lipid metabolism in non-obese Japanese type 2 diabetic patients. *Horm Metab Res* 2002; 34: 27–31
- Sjödin B, Westing YH, Apple FS. Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. *Sports Med* 1990; 10: 236–254
- Bergholm R, Mäkimattila S, Valkonen M, Liu ML, Lahdenpera S, Taskinen MR, Sovijarvi A, Malmberg P, Yki-Järvinen H. Intense physical training decreases circulating antioxidants and endothelium-dependent vasodilatation *in vivo*. *Atherosclerosis* 1999; 145: 341–349
- Leaf DA, Kleinman MT, Hamilton M, Deetrick RW. The exercise-induced oxidative stress paradox: The effects of physical exercise training. *Am J Med Sci* 1999; 317: 295–300
- Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819–1828
- Sen CK. Oxidants and antioxidants in exercise. *J Appl Physiol* 1995; 79: 675–686
- König D, Wagner KH, Elmadfa I, Berg A. Exercise and oxidative stress: significance of antioxidants with reference to inflammatory, muscular, and systemic stress. *Exerc Immunol Rev* 2001; 7: 108–133
- Wang XL, Rainwater DL, VendeBerg JF, Mitchell BD, Mahaney MC. Genetic contributions to plasma total antioxidant activity. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2001; 21: 1190–1195
- Ghiselli A, Serafini M, Natella F, Scaccini C. Total antioxidant capacity as a tool to assess redox status: critical view and experimental data. *Free Radical Biol Med* 2000; 29: 1106–1114
- Therond P, Bonnefont-Rousselot D, Davit-Spraul A, Conti M, Legrand A. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 373–384
- Ross R. Atherosclerosis, an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115–126
- Orem C, Orem A, Uydu HA, Celik S, Erdol C, Kural BV. The effects of lipid-lowering therapy on low-density lipoprotein auto-antibodies: relationship with low-density lipoprotein oxidation and plasma total antioxidant status. *Coron Artery Dis* 2002; 13: 65–71
- Turk Z, Sesto M, Skodlar J, Ferencak G, Turk N, Stavljenic-Rukavina A. Soluble LDL-immune complexes in type 2 diabetes and vascular disease. *Horm Metabol Res* 2002; 34: 196–201
- Salonen JT, Yla-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, Nyyssonen K, Palinski W, Witztum JL. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 1992; 339: 883–887
- Inoue T, Uchida T, Kamishirado H, Takayanagi K, Hayashi T, Morooka S. Clinical significance of antibody against oxidized low density lipoprotein in patients with atherosclerotic coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* 2001; 37: 775–779
- Sanchez-Quesada JL, Ortega H, Payes-Romero A, Serrat-Serrat J, González-Sastre F, Lasunción MA, Ordóñez-Llanos J. LDL from aerobic-trained subjects shows higher resistance to oxidative modification than LDL from sedentary subjects. *Atherosclerosis* 1997; 132: 207–213
- Williams PT, Krauss RM, Wood PD, Lindgren FT, Giotas C, Vranizan KM. Lipoprotein subfractions of runners and sedentary men. *Metabolism* 1986; 35: 45–52

- ²³ Johnson A, Collins P, Higgins I, Harrington D, Connolly J, Dolphin C, McCreery M, Brady L, O'Brien M. Psychological, nutritional and physical status of olympic road cyclists. *Br J Sports Med* 1985; 19: 11 – 14
- ²⁴ Giada F, Baldo-Enzi G, Balocchi MR, Zuliani G, Baroni L, Fellin R. Heparin-released plasma lipase activities, lipoprotein and apoprotein levels in young adult cyclists and sedentary men. *Int J Sports Med* 1988; 9: 270 – 274
- ²⁵ Ji LL. Exercise and oxidative stress: role of the cellular antioxidant systems. *Exerc Sport Sci Rev* 1995; 23: 135 – 166
- ²⁶ Sánchez-Quesada JL, Homs-Serradesanferm R, Serrat-Serrat J, Serra Grima JR, González Sastre F, Ordóñez Llanos J. Increase of LDL susceptibility to oxidation occurring after intense long duration aerobic exercise. *Atherosclerosis* 1995; 118: 297 – 305
- ²⁷ Kujala UM, Ahotupa M, Vasankari T, Kaprio J, Tikkanen MJ. Low LDL oxidation in veteran endurance athletes. *Scand J Med Sci Sports* 1996; 6: 303 – 308
- ²⁸ Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Ahotupa M. Reduced oxidized LDL levels after a 10-month exercise program. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 1496 – 1501
- ²⁹ Pincemail J, Lecomte J, Castiau JP, Collard E, Vasankari T, Cherami-Bien J, Limet R, Defraigue J. Evaluation of autoantibodies against oxidized LDL and antioxidant status in top soccer and basketball players after 4 months of competition. *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 559 – 565
- ³⁰ Vasankari TJ, Kujala UM, Vasankari TM, Vuorimaa T, Ahotupa M. Effects of acute prolonged exercise on serum and LDL oxidation and antioxidant defences. *Free Radic Biol Med* 1997; 22: 509 – 513
- ³¹ Brites FD, Evelson PA, Christiansen MG, Nicol MF, Basilico MJ, Wikinski RW, Llesuy SF. Soccer players under regular training show oxidative stress but an improved plasma antioxidant status. *Clin Sci (Lond)* 1999; 96: 381 – 385
- ³² Subudhi AW, Davis SL, Kipp RW, Askew W. Antioxidant status and oxidative stress in elite alpine ski racers. *Intern J of Sport Nutr and Exerc Metab* 2001; 11: 32 – 41

Hiperemia reactiva de extremidades superiores e inferiores en diferentes grupos de entrenamiento deportivo

José Bernardo Gutiérrez-Sánchez,* María Teresa García-Unzueta,** José Antonio Amado-Señaris,*** José Juan Poveda-Sierra,**** Inmaculada De-Mier,***** José Ramón de Berrazueta-Fernández*****

RESUMEN

Introducción: el ejercicio físico induce un incremento en el flujo arterial, la pletismografía por oclusión intermitente con strain gauge de mercurio en silastic permite estudiar las extremidades superiores e inferiores en hiperemia reactiva. **Objetivos:** determinar el flujo arterial en hiperemia reactiva de las extremidades superiores e inferiores en ciclistas, remeros y un grupo control. **Material y métodos:** estudiamos 10 ciclistas de alta competición, 10 remeros de alta competición y 10 sujetos de control mediante técnica de hiperemia reactiva midiendo el flujo arterial mediante pletismografía en extremidades superiores e inferiores. **Resultados:** no existieron diferencias significativas en los flujos basales. Mayores incrementos de flujo arterial en piernas de ciclistas y remeros, en los controles. Incrementos mayores de flujo arterial en brazos de remeros comparado con ciclistas y controles. **Conclusiones:** la técnica de hiperemia reactiva medida por pletismografía es de fácil aplicación, mínimamente invasiva y sus datos son reproducibles. Existe un mayor incremento en el flujo arterial en hiperemia reactiva en extremidades superiores e inferiores en los deportistas y es mayor en las extremidades que se ejercitan más por el tipo de deporte. Deben de realizarse más estudios comparativos entre grupos sanos con diferentes riesgos para padecer enfermedades cardiovasculares.

Palabras clave: Hiperemia, endotelio, ejercicio, pletismografía.

ABSTRACT

Background: Physical exercise induces an increase in blood flow. Intermittent occlusion with strain gauge plethysmography makes it possible to study reactive hyperemia by comparing upper and lower limbs. **Objectives:** To determine reactive hyperemia blood flow of upper and lower extremities in cyclists, rowers and a control group. **Methods:** Reactive hyperemia with strain gauge plethysmography with measurement of blood flow in the calf and forearm in two groups of highly trained individuals, 10 cyclists, 10 rowers, and 10 untrained control subjects. **Results:** The three groups had similar baseline blood flow in forearm and leg. The increase in blood flow in the leg was similar in cyclists and rowers, and higher in these groups than in the control group. The increase in blood flow in the forearm was higher in rowers than in cyclists and control subjects. **Conclusion:** Reactive hyperemia with strain gauge plethysmography is a non invasive and reproducible technique. Exercise increases blood flow in all muscle regions and to a greater degree on those more trained. There should be more comparative studies between healthy groups with different risk for cardiovascular disease.

Key words: Hyperemia, endothelium, exercise, plethysmography.

INTRODUCCIÓN

La inactividad física aumenta el riesgo a padecer enfermedad cardiovascular,¹ la incidencia de enfermedad cardiovascular (EC) es menor en los trabajadores físicamente activos que en los sedentarios.² Altos niveles de actividad física se asocian con una baja morbilidad y mortalidad coronaria.³

El ejercicio aumenta la capacidad funcional cardiovascular tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedad cardiovascular conocida,⁴ produ-

* Pasante en Investigación de Cardiología.

** Pasante en Investigación de Endocrinología.

*** Profesor de Endocrinología.

**** Profesor de Cardiología.

***** Enfermera Unidad de Pletismografía.

Unidad de Pletismografía del Servicio de Cardiología.
Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Santander Cantabria. España.

Estudio apoyado por la fundación "Marqués de Valdecilla".
Santander, Cantabria, España.

ce cambios cardiovasculares tanto a nivel cardiaco como en la circulación periférica y produce aumento del gasto cardiaco, para cualquier nivel de actividad.⁴ El aumento del gasto cardiaco, produce un aumento del flujo sanguíneo que actúa sobre la pared de los vasos sanguíneos a través de dos fuerzas principales: la tensión pulsátil y la tensión de roce (shear stress). Este último estímulo mecánico, al actuar sobre el endotelio vascular induce la liberación de una serie de factores, que regulan la homeostasis vascular favoreciendo la vasodilatación mediada por el endotelio. El aumento crónico en la tensión de roce como consecuencia del ejercicio, mejora la función endotelial tanto en animales como en humanos⁵ principalmente a través de un mecanismo que implica un aumento en la producción de óxido nítrico (ON) por el endotelio vascular.⁶ En estudios previos encontramos que los sujetos entrenados tienen una respuesta al ejercicio que refleja el incremento en la producción de vasodilatadores endógenos, también demostramos en estos sujetos un incremento comparativo de sus niveles basales de nitritos y nitratos en plasma que pueden ser un indicador de la producción de ON por la práctica habitual de ejercicio.⁶

Se han empleado diversas técnicas de pletismografía de oclusión venosa para el estudio de la función endotelial. Unas emplean la infusión de sustancias agonistas en la arteria braquial y oclusión venosa intermitente midiendo la distensión del antebrazo condicionada por las variaciones del flujo arterial por medio de strain gauge de mercurio en silastic⁷ o bien midiendo la distensión intermitente de las venas del dorso de la mano durante la infusión de agonistas que liberan ON endotelial como la bradikinina.⁸

El concepto y estudio de la disfunción endotelial como proceso preaterogénico en numerosas situaciones de riesgo cardiovascular, ha propiciado el estudio de la función endotelial usando ecografía Doppler de alta resolución para valorar la dilatación arterial tras la oclusión isquémica del brazo, una técnica no invasiva que ha sido utilizada en grupos amplios de población.⁸ Técnica que sin embargo no ha sido tan ampliamente empleada en estudios de flujo arterial en extremidades inferiores.

Los estudios de pletismografía en pacientes o personas que practican ejercicio han dado resultados contradictorios. En personas sanas entrenadas se ha encontrado mejoría de la dilatación mediada por el flujo, dependiente del endotelio en la extremidad superior,⁹ mientras que otros estudios no encuentran diferencias entre la extremidad dominante entrenada comparada con la extremidad no dominante.¹⁰

La técnica de hiperemia reactiva con medición del flujo arterial mediante pletismografía con strain gauge de mercurio en silastic se ha usado para el estudio comparativo de la función endotelial en extremidades inferiores en diferentes grupos.¹¹

Realizamos el presente estudio para comprobar cómo actúan distintos tipos de entrenamiento físico sobre la función endotelial, en los distintos territorios musculares, por medio de la hiperemia reactiva con medición del flujo arterial mediante pletismografía con strain gauge de mercurio en silastic. Para ello estudiamos grupos comparativos, uno de ciclistas de alta competición, un grupo de remeros de alta competición y un grupo de personas sanas sedentarias.

MATERIAL Y MÉTODOS

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla" y se obtuvo consentimiento informado de todos los sujetos antes de su inclusión. Se estudiaron tres grupos diferentes de sujetos varones sanos:

Grupo I:

Diez ciclistas de alta competición, varones, con una edad media de 21.5 años (20-36). Todos con un entrenamiento de al menos 5 años (media 7.78 años rango 5-10 años), y una media de 25 horas de entrenamiento a la semana (18 a 33 h/semana). Ninguno de ellos realizaba otro tipo de deporte. Todos realizaron el estudio durante el periodo anual de competición.

Grupo II:

Diez remeros de alta competición, varones, con una edad media de 24 años (18-33). Todos con un entrenamiento de por lo menos 2 años (media 4.92 años rango 2-11 años), y una media de 21 horas de entrenamiento a la semana, (20-22 h/semana) realizando ejercicios de fortalecimiento en brazos y piernas. Todos realizaron el estudio durante el periodo anual de competición.

Grupo III:

Diez varones sanos, con una media de edad de 24.2 años (20-36), estudiantes de la Universidad de Cantabria y Médicos Residentes del Hospital Universitario "Marqués de Valdecilla. Ninguno realizaba más de 3 horas de ejercicio regular a la semana.

A todos los sujetos en estudio se les realizó un examen físico, hemograma completo, determinaciones bioquímicas básicas, y un ECG basal y en ejercicio, resultando normales en todos. Ninguno de los sujetos en estudio era fumador de tabaco ni estaba tomando medicación alguna.

Se establecieron los siguientes criterios de exclusión: tabaquismo, hipertensión arterial, diabetes mellitus, perfil lipídico alterado, hepatopatías, obesidad (Quetelet índice por arriba de 25), enfermedades de tiroides y enfermedades cardíacas.

Protocolo de estudio. Los estudios de pletismografía se realizaron temprano por la mañana en una habitación con control de la temperatura entre 27 y 29°. Los sujetos estaban en ayuno de al menos 8 horas. Antes de realizar algún registro los sujetos en estudio permanecieron relajados durante un periodo de tiempo de 15 a 20 minutos en decúbito supino. Todos los sujetos se sometieron a dos estudios pletismográficos con técnica de hiperemia reactiva, uno en la extremidad inferior y otro en la extremidad superior no dominante con medición del flujo por medio de strain gauge de mercurio en silastic. El primer estudio se realizó en la extremidad inferior, elevada sobre una superficie plana a un ángulo de 30 grados para permitir un vaciamiento de las venas de forma espontánea. El manguito de oclusión isquémica y venosa, se colocó en tercio medio del muslo, y el strain gauge de mercurio en silastic en tercio medio de pierna, según técnica descrita previamente.¹²

El segundo estudio se realizó en la extremidad superior elevada sobre una superficie plana a un ángulo de 30 grados para permitir un vaciamiento de las venas de forma espontánea. El estudio se realizó mediante la técnica descrita previamente.¹² Se colocó el manguito neumático alrededor del brazo, se midió la distensión basal del antebrazo.

En ambos estudios se midieron cinco a diez ciclos, por medio de strain gauge de mercurio en silastic y con un amplificador Hokanson, inflando el manguito intermitentemente a 40 mmHg en periodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado. A continuación, se produjo isquemia en la extremidad en estudio mediante el inflado del manguito a una presión 50 mmHg superior a la tensión sistólica basal del sujeto en estudio, durante cinco minutos, desinflando el manguito al término de este tiempo, cambiando inmediatamente al compresor automático y comenzando las oclusiones intermitentes a 40 mmHg en periodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado hasta completar 10 minutos de registro. Se obtuvieron los siguientes parámetros:

Flujo basal: promediando tres registros sin artefactos de flujo basal.

Flujo máximo: analizando los tres registros primeros en hiperemia, a partir de los 15 segundos desde el término de la isquemia. No se tomó en cuenta el primer registro posisquemia para evitar el fenómeno de aumento.¹³

El flujo arterial es expresado como mL min⁻¹·100 mL⁻¹ mediante la técnica descrita por Whitney.¹⁴

Tiempo de hiperemia: desde que termina la isquemia, hasta recuperar el flujo basal o un rango de más/menos 5%.

El incremento de flujo se obtuvo dividiendo el flujo arterial en hiperemia reactiva de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

Para el estudio de la vasodilatación endotelio independiente empleamos la nitroglicerina sublingual. Obtuvimos primero un registro basal tomando la media de 3 registros en el brazo con un inflado intermitente del manguito a 40 mmHg en periodos de 10 segundos de inflado y 10 segundos de desinflado, se administró la nitroglicerina en dosis de 400 microgramos por vía sublingual y se continuó inmediatamente, obteniendo un registro durante 10 minutos, inflando durante 10 segundos y desinflando durante 10 segundos.

Estadística: los resultados fueron analizados con el programa informático SPSS versión 8.0 (Statistical Package for Social Sciences, Chicago, IL, USA). La distribución paramétrica o no paramétrica de las variables estudiadas, se analizaron con el test Kolmogorov-Smirnov.

Todos los datos se expresan como media, además se obtuvieron la mediana y el rango para todas las variables analizadas.

Las diferencias fueron evaluadas mediante ANOVA pues la distribución observada fue paramétrica. Cuando se encontraron diferencias un test Scheffe fue usado para determinarlas.

RESULTADOS

Los territorios mayormente ejercitados muestran comparativamente flujos basales menores (*Cuadro I*).

Sin embargo, no existieron diferencias significativas de los flujos basales entre los grupos (*Cuadros II, III y IV*).

En los grupos de ciclistas y remeros, el mayor incremento de flujo arterial en las piernas con respecto al grupo control refleja el predominio de entrenamiento físico en las extremidades inferiores de estos grupos (*Cuadro V*).

Cuadro I. Datos descriptivos.

Variable	Ciclistas	Remeros	Controles
Edad	21.5 (\pm 3.7) años	24 (\pm 3.8) años	24.2 (\pm 4.6) años
Peso corporal, kg	69.9 (\pm 5.9)	77.7 (\pm 6.6)	74.8 (\pm 10.3)
Tensión arterial sistólica, mmHg	119 (\pm 9.08)	116 (\pm 10.3)	116 (\pm 7.1)
Tensión arterial diastólica, mmHg	62 (\pm 8.01)	65 (\pm 9.29)	67 (\pm 6.4)
Frecuencia cardiaca, Lpm	54 (\pm 7.18)	56 (\pm 11.5)	67 (\pm 7.2)
Colesterol total, mmol/L	159 (\pm 26)	159.8 (\pm 19.5)	181.7 (\pm 22.7)
Fibrinógeno, mmol/L	221.2 (\pm 36)	229.1 (\pm 42.4)	266.9 (\pm 78)
HDL colesterol, mmol/L	48 (\pm 12)	54.2 (\pm 14)	46.7 (\pm 13.6)
Glucosa, mmol/L	80 (\pm 10.6)	77.1 (\pm 4.2)	79.9 (\pm 4.8)
Horas de entrenamiento/semana	25.14 h/sem	21.85 h/sem	< 3 h/sem
Flujo arterial basal en la pierna *	1.8 (\pm 0.6)	1.8 (\pm 0.34)	2.1 (\pm 0.82)
Flujo arterial en hiperemia en la pierna*	15.1 (\pm 5.1)	14.2 (\pm 4.7)	9.3 (\pm 3.9)
Incremento del flujo arterial en la pierna ^o	8.41 (\pm 2.61)	7.83 (\pm 2.82)	4.45 (\pm 1.61)
Flujo arterial basal en el antebrazo*	6.0 (\pm 2.31)	4.6 (\pm 1.93)	4.1 (\pm 1.91)
Flujo arterial en hiperemia en el antebrazo*	21.9 (\pm 7.9)	22.5 (\pm 5.6)	12.5 (\pm 5)
Incremento del flujo arterial en el antebrazo ^o	3.88 (\pm 1.22)	5.35 (\pm 1.71)	3.22 (\pm 1.09)

* Flujos arteriales expresados en mL·min⁻¹·100 mL tejido⁻¹^o Los incrementos de flujo se obtuvieron dividiendo el flujo arterial en hiperemia reactiva de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

Las comparaciones en los tiempos de hiperemia en las piernas, muestran una diferencia significativa entre los ciclistas y los controles, ($p = 0.0001$) y entre los remeros y los controles ($p = 0.008$). No existiendo una diferencia significativa entre los remeros y los ciclistas ($p = 0.402$) (Cuadro VI).

La comparación en los tiempos de hiperemia en los brazos, demostró una diferencia significativa entre los remeros y los controles, ($p = 0.013$) y no fue significativa entre los ciclistas y los controles ($p = 0.234$) (Cuadro VII).

No observamos una diferencia significativa en el tiempo de hiperemia entre los remeros y los ciclistas ($p = 0.386$) (Cuadro VII).

El grupo de remeros mostró un mayor incremento de flujo arterial en hiperemia reactiva en los brazos con respecto a los ciclistas y al grupo control, reflejando una mayor vasodilatación endotelio dependiente consecuente al entrenamiento físico en las extremidades superiores de este grupo (Cuadro VIII).

No se obtuvieron diferencias significativas en los estudios de vasodilatación endotelio independiente empleando nitroglicerina sublingual (Cuadro IX).

DISCUSIÓN

La vasodilatación como respuesta al ejercicio ocurre inmediatamente¹⁶ y de forma crónica como respuesta a una actividad de entrenamiento físico sostenido.¹⁷

Cuadro II. Comparación de flujos arteriales basales ciclistas vs grupo control.

	Ciclistas	Grupo control	Sig
Flujo basal en la pierna	1.80	2.17	0.266
Flujo basal en el antebrazo	6.02	4.18	0.06

Cifras expresadas en mL·min⁻¹·100 mL tejido⁻¹

Cuadro III. Comparación de flujos arteriales basales remeros vs grupo control.

	Remeros	Grupo control	Sig
Flujo basal en la pierna	1.85	2.17	0.360
Flujo basal en el antebrazo	4.66	4.18	0.812

Cifras expresadas en mL·min⁻¹·100 mL tejido⁻¹

Cuadro IV. Comparación de flujos arteriales basales remeros vs ciclistas.

	Remeros	Ciclistas	Sig
Flujo basal en la pierna	1.85	1.80	0.979
Flujo basal en el antebrazo	4.66	6.02	0.201

Cifras expresadas en mL·min⁻¹·100 mL tejido⁻¹

Cuadro V. Comparación de incrementos en los flujos arteriales en las extremidades inferiores.

Incrementos de flujos en las piernas			
Ciclistas	Remeros	Controles	Sig
8.41		4.45	0.000
8.41	7.83		0.80
	7.83	4.45	0.002

El incremento de flujo se obtuvo dividiendo el flujo arterial en hiperemia reactiva de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

Cuadro VI. Comparación de tiempos de hiperemia reactiva en las piernas.

Tiempos de hiperemia en la pierna			
Ciclistas	Remeros	Controles	Sig
7' 19"		3' 53"	0.000
7' 19"	6' 24"		0.402
	6' 24"	3' 53"	0.008

Cifras expresadas en minutos (') y segundos (").

Cuadro VII. Comparación de tiempos de hiperemia reactiva en las extremidades superiores.

Tiempos de hiperemia en los brazos			
Ciclistas	Remeros	Controles	Sig
5' 03"		3' 49"	0.234
5' 03"	5' 55"		0.386
	5' 55"	3' 49"	0.013

Cifras expresadas en minutos (') y segundos (").

Cuadro VIII. Comparativa de incrementos en los flujos arteriales en las extremidades superiores.

Incrementos de flujos en los brazos			
Ciclistas	Remeros	Controles	Sig
3.88		3.22	0.419
3.88	5.35		0.019
	5.35	3.22	0.001

El incremento de flujo se obtuvo dividiendo el flujo arterial en hiperemia reactiva de la extremidad estudiada entre su flujo arterial basal.

La vasodilatación que es respuesta a un aumento en el flujo arterial está principalmente relacionada con la liberación del endotelio de óxido nítrico (ON) y prostaglandinas (PG).¹⁸ Los efectos del ON al mantener el tono y flujo arterial¹⁹ han sido estudiados en varias

Cuadro IX. Comparativa de incremento en los flujos arterial empleando nitroglicerina sublingual.

Incremento en el flujo arterial en el brazo (nitroglicerina)			
Ciclistas	Remeros	Controles	Sig
1.43 (103-233)		1.43 (103-233)	
	1.43 (110-196)		1.43 (110-196)
1.43 (108-263)		1.43 (108-263)	

El incremento de flujo se obtuvo dividiendo el flujo arterial empleando nitroglicerina sublingual entre su flujo arterial basal.

situaciones relacionadas al ejercicio midiendo la expresión de enzimas asociadas,²⁰ metabolitos o mediadores intracelulares, también indirectamente mediante pletismografía arterial.²¹

Posterior a un periodo de isquemia inducida por oclusión arterial del flujo arterial, existe una dilatación arterial considerable con el consecuente aumento del flujo arterial a lo que se le llama hiperemia reactiva, la cual es dependiente de la vasodilatación mediada por el endotelio y que es independiente de la inervación vascular.²² La hiperemia se debe en parte a una relajación vascular miogénica y a la liberación de mediadores y metabolitos del tejido isquémico,²³ como PG²⁴ y ON,^{25,26} estas dos últimas pareciendo actuar en combinación.

Aunque la sintetasa del ON es una enzima constitutiva, el estímulo mecánico de la tensión de roce y del pulso actúa como señales para incrementar la expresión de la enzima, por lo que aumenta la dilatación en ciertas situaciones fisiológicas en las cuales aumenta el gasto cardiaco, como el embarazo.²⁷ Estos cambios son similares a los que son observados en territorios vasculares sometidos a incrementos de flujo por el ejercicio,²⁸ o a los cambios inducidos en la reactividad vascular coronaria observada después de varias semanas de ejercicio,²⁹ dando como resultado un incremento en la síntesis y en la actividad del ON endotelial, así como un incremento en la vasodilatación dependiente del incremento del flujo arterial.^{30,31}

Los riesgos cardiovasculares se relacionan con una reducción o bloqueo de la síntesis de ON por diversos mecanismos, uno de los más importantes es la producción de radicales libres^{32,33} de diferentes orígenes como las enzimas NADP/NADPH y la xantina oxidasa.³⁴⁻³⁶

Los factores de riesgo cardiovascular como la hipertensión arterial³⁷ y el tabaquismo³⁸ tienen demostrada relación directa con la disfunción arterial.

El grupo control de sujetos sedentarios mostraron en este estudio un menor incremento en el flujo arte-

rial en hiperemia reactiva, tanto en extremidades superiores como en las inferiores, lo cual concuerda con estudios que relacionan el sedentarismo con la disfunción endotelial.³⁹

Las células endoteliales producen factores vasoconstrictores como la angiotensina II y la endotelina, las cuales contribuyen a regular el tono vascular, en situaciones de incremento sostenidos y habituales del flujo arterial a largo plazo como en los deportistas de alto rendimiento se observa aumento de la producción y de la acción de factores que producen vasodilatación y que contrarrestan la acción vasoconstrictora de las primeras,⁴⁰ además se ha demostrado un decremento relativo en la producción de endotelina-1⁴¹ y la inhibición de su liberación por el ON.⁴²

Es probable que este incremento en la tensión de roce favorezca la acción mitogénica de los factores que modulan la remodelación vascular y la angiogénesis que se produce por el entrenamiento físico.^{43,44}

La síntesis de factores derivados del endotelio como el ON y las prostaciclina es mayor en los territorios sujetos a ejercicio que a nivel sistémico⁴⁵⁻⁴⁷ con aumentos consecuentes en el flujo vascular y en la tensión de roce.⁴⁸ Nuestros datos indican que el mayor número de horas de entrenamiento se relaciona con los incrementos en el flujo arterial durante hiperemia reactiva en las piernas de los ciclistas y en los remeros (Cuadro VI) y con el territorio muscular en el que predomina el entrenamiento, demostramos una diferencia significativa en el incremento del flujo arterial de las extremidades superiores cuando se comparan los remeros con los ciclistas y los remeros con los controles, además demostramos no existir una diferencia significativa entre los incrementos de flujo arterial entre los ciclistas y el grupo control (Cuadro VIII).

El ejercicio en los ciclistas y en los remeros aumenta la vasodilatación posisquémica que refleja un incremento en la producción y expresión de ON, así como de prostaglandinas. Este incremento en el flujo posisquémico es mayor en los territorios que son entrenados con más intensidad, comparado con el incremento sistémico.

Estos datos son referencias objetivas de grupos bien diferenciados de deportistas en cuanto al predominio de territorio muscular entrenado y de su diferenciación con sujetos sedentarios y que pueden servir al comparar los estudios realizados con esta técnica a grupos de enfermos como los que estamos llevando a cabo en diabéticos por ejemplo.

La técnica de hiperemia reactiva medida por ple-tismografía es mínimamente invasiva, de fácil aplicación, y sus datos son reproducibles. Su aplicación a

grupos poblacionales puede realizarse en un periodo relativamente corto de tiempo.

Los incrementos de flujo arterial en hiperemia reactiva se correlacionan con la mayor vasodilatación endotelio dependiente de las extremidades con predominio de entrenamiento físico.

Creemos que deben de realizarse más estudios comparativos en grupos representativos de enfermedades sistémicas y en grupos de población sanos pero con diferentes riesgos de enfermedad cardiovascular.

BIBLIOGRAFÍA

- Morris JN, Kagan A, Pattison DC, Gardner MJ. Incidence and prediction of ischemic heart-disease in London busmen. *Lancet* 1966; 2: 553-559.
- Cassel J, Heyden S, Bartel AG et al. Occupation and physical activity and coronary heart disease. *Arch Intern Med* 1971; 128: 920-928.
- Roserman RH, Brand RJ, Jenkins D, Friedman M, Straus R, Wurm M. Coronary heart disease in the Western Collaborative Group. *JAMA* 1975; 233: 872-877.
- Redwood DR, Rosing DR, Epstein SE. Circulatory and symptomatic effects of physical training in patients with coronary artery disease and angina pectoris. *N Engl J Med* 1972; 286: 959-965.
- Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1652-1660.
- Poveda JJ, Riestra A, Salas E, Cagigas ML, Amado JA, Berrazueta JR. Contribution of nitric oxide to exercise-induced changes in healthy volunteers: effects of acute and long-term physical training. *Eur J Clin Invest* 1997; 27: 967-971. C:\Documents and Settings\jbs0128\Mis documentos\My Music
- Berrazueta JR, Baghat K, Vallance P, MacAllister RJ. Dose and time-dependency of the dilator effects of the Endothelin antagonist, BQ 123, in the human forearm. *Br J Clin Pharmacol* 1997; 44: 569-571.
- Sorensen KE, Celermajer DS, Spiegelhalter DJ et al. Non-invasive measurement of human endothelium dependent arterial responses: accuracy and reproducibility. *Br Heart J* 1995; 74: 274-253.
- Clarkson P, Montgomery HE, Mullen MJ et al. Exercise training enhances endothelial function in young men. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1379-1385.
- Green DJ, Fowler DT, O'Driscoll JG, Blanksby BA, Taylor RR. Endothelium-derived nitric oxide activity in forearm vessels of tennis players. *J Appl Physiol* 1996; 81: 943-948.
- Kroese AJ. Reactive hyperaemia in the calf of trained and untrained subjects: a study with strain gauge plethysmography. *Scand J Clin Lab Invest* 1977; 37: 111-115.
- Kroese AJ. Reactive hyperaemia in the human calf after long lasting ischaemia. *Scand J Clin Lab Invest* 1976; 36: 739-745.
- Patterson GC, Whelan RF. Reactive hyperaemia in the human forearm. *Clin Sci* 1955; 14: 197-201.
- Whitney RJ. The measurement of volume changes in human limbs. *J Physiol (London)* 1953; 121: 1-27.
- Dziekian G, Myers J, Goebbels U et al. Effects of exercise training on limb blood flow in patients with reduced ventricular function. *Am Heart J* 1998; 136: 22-30.

16. Wang J, Wolin MS, Hintze TH. Chronic exercise enhances endothelium-mediated dilation of epicardial coronary artery in conscious dogs. *Circ Res* 1993; 73: 829-838.
17. Miller VM, Vanhoutte PM. Enhanced release of endothelium-derived factor(s) by chronic increases in blood flow. *Am J Physiol* 1988; 255: H446-451.
18. Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* 1993; 329: 2002-2012.
19. Sessa WC, Harrison JK, Barber CM et al. Molecular cloning and expression of a cDNA encoding endothelial cell nitric oxide synthase. *J Biol Chem* 1992; 267: 15274-15276.
20. Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. *N Engl J Med* 1990; 323: 27-36.
21. Tagawa T, Imaizumi T, Endo T, Shiramoto M, Harasawa Y, Takeshita A. Role of nitric oxide in reactive hyperemia in human forearm vessels. *Circulation* 1994; 90: 2285-2290.
22. Duff F, Shepherd JT. The circulation in the chronically denervated forearm. *Clin Sci* 1953; 12: 407-416.
23. Shepherd JT. Circulation to skeletal muscle. Handbook of physiology. The cardiovascular system. Peripheral circulation and organ blood flow. Bethesda, MD: *Am Physiol Soc* 1983. Sect. 2, vol. III, pt. 1, chapt. 11 pp: 319-370.
24. Kilbom A, Wennmalm A. Endogenous prostaglandins as local regulators of blood flow in man: effect of indomethacin on reactive and functional hyperaemia. *J Physiol Lond* 1976; 257: 109-121.
25. Engelke KA, Halliwill JR, Proctor DN, Dietz NM, Joynér MJ. Contribution of nitric oxide and prostaglandins to reactive hyperemia in human forearm. *J Appl Physiol* 1996; 81: 1807-1814.
26. Ress DD, Palmer RM, Moncada S. Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 3375-3378.
27. Willians DJ, Vallance PJ, Neild GH, Spencer JA, Imms FJ. Nitric Oxide-mediated Vasodilation in Human Pregnancy. *Am J Physiol* 1997; 272: H748-752.
28. Koller A, Huang A, Sun D, Kaley G. Exercise training augments flow-dependent dilation in rat skeletal muscle arterioles. Role of endothelial nitric oxide and prostaglandins. *Circ Res* 1995; 76: 544-550.
29. Bove AA, Dewey JD. Proximal coronary vasomotor reactivity after exercise training in dogs. *Circulation* 1985; 71: 620-625.
30. Miller VM, Vanhoutte PM. Enhanced release of endothelium-derived factor(s) by chronic increases in blood flow. *Am J Physiol* 1988; 255: H446-451.
31. Charlton GA, Crawford MH. Physiological consequences of training. *Cardiol Clin* 1997; 15: 345-354.
32. Laight DW, Kaw AV, Carrier MJ, Anggard EE. Interaction between superoxide anion and nitric oxide in the regulation of vascular endothelial function. *Br J Pharmacol* 1998; 124: 238-244.
33. Gryglewski RJ, Palmer RM, Moncada S. Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature* 1986; 320: 454-456.
34. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T et al. 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: 1916-1923.
35. McIntyre M, Bohr DF, Dominiczak AF. Endothelial function in hypertension: the role of superoxide anion. *Hypertension* 1999; 34: 539-545.
36. Cardillo C, Kilcoyne CM, Cannon RO 3rd, Quyyumi AA, Panza JA. Xanthine oxidase inhibition with oxypurinol improves endothelial vasodilator function in hypercholesterolemic but not in hypertensive patients. *Hypertension* 1997; 30: 57-63.
37. Panza JA, Quyyumi AA, Brush JE Jr, Epstein SE. Abnormal endothelium-dependent vascular relaxation in patients with essential hypertension. *N Engl J Med* 1990; 323: 22-27.
38. Node K, Kitakaze M, Yoshikawa H, Kosaka H, Hori M. Reversible reduction in plasma concentration of nitric oxide induced by cigarette smoking in young adults. *Amer J Cardiol* 1997; 79: 1538-1541.
39. Sherman DL. Exercise and endothelial function. *Coronary Artery Dis* 2000; 11: 117-122.
40. Kuchan MJ, Frangos JA. Shear stress regulates endothelin-1 release via protein kinase C and cGMP in cultured endothelial cells. *Am J Physiol* 1993; 264: H150-156.
41. Sharefkin JB, Diamond SL, Eskin SG, McIntire LV, Dieffenbach CW. Fluid Flow decreases preendothelin mRNA levels and suppresses endothelin-1 peptide release in cultured human endothelial cells. *J Vasc Surg* 1991; 14: 1-9.
42. Boulanger C, Lüscher TF. Release of endothelin from the porcine aorta. Inhibition by endothelium-derived nitric oxide. *J Clin Invest* 1990; 85: 587-590.
43. Delp MD. Differential effects of training on the control of skeletal muscle perfusion. *Med Sci Sports Exerc* 1998; 30: 361-374.
44. Dornyei G, Monos E, Kaley G, Koller A. Myogenic responses of isolated rat skeletal muscle venules: modulation by norepinephrine and endothelium. *Am J Physiol* 1996; 271: H267-272.
45. Higashi Y, Sasaki S, Sasaki N et al. Daily aerobic exercise improves reactive hyperemia in patients with essential hypertension. *Hypertension* 1999; 33: 591-597.
46. Sherman DL. Exercise and endothelial function. *Coronary Artery Dis* 2000; 11: 117-122.
47. Rubanyi GM, Romero JC, Vanhoutte PM. Flow-induced release of endothelium-derived relaxing factor. *Am J Physiol* 1986; 250: H1145-H1149.
48. Niebauer J, Cooke JP. Cardiovascular effects of exercise: role of endothelial shear stress. *J Am Coll Cardiol* 1996; 28: 1652-1660.

Dirección para correspondencia:

José Bernardo Gutiérrez Sánchez
Departamento de Radiodiagnóstico
Hospital Universitario Dr. José Eleuterio González.
Avenida Francisco I. Madero Poniente esquina con
Gonzalitos.
Monterrey, Nuevo León. México.
C.P. 64460
Teléfono (81) 83 46 66 28
Fax: (81) 83 46 01 27 Ext. 200.
Teléfono celular particular (81) 80 33 30 49
Correo electrónico: josebgut@hotmail.com