



ACTA DE EVALUACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

Año académico 2016/17

DOCTORANDO: TELLO BLASCO, SUSANA

D.N.I./PASAPORTE: \*\*\*\*6804Q

PROGRAMA DE DOCTORADO: D420 CIENCIAS DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE: MEDICINA Y ESPECIALIDADES MÉDICAS

TITULACIÓN DE DOCTOR EN: DOCTOR/A POR LA UNIVERSIDAD DE ALCALÁ

En el día de hoy 29/09/17, reunido el tribunal de evaluación nombrado por la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado de la Universidad y constituido por los miembros que suscriben la presente Acta, el aspirante defendió su Tesis Doctoral, elaborada bajo la dirección de JOSÉ SABÁN RUIZ.

Sobre el siguiente tema: EVALUACIÓN DE LA DISFUNCIÓN AUTONÓMICA EN UN ESCENARIO CARDIOMETABÓLICO Y SU INTERACCIÓN CON LA EDAD, LA RIGIDEZ ARTERIAL, LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y EL ESTRÉS OXIDATIVO

Finalizada la defensa y discusión de la tesis, el tribunal acordó otorgar la CALIFICACIÓN GLOBAL<sup>14</sup> de (no apto, aprobado, notable y sobresaliente): SOBRESALIENTE

Alcalá de Henares, 29 de Septiembre de 2017

EL PRESIDENTE

[Signature] Fdo.: M. Rey Dolan

EL SECRETARIO

[Signature] Fdo.: RAMÓN ARROYO

EL VOCAL

[Signature] Fdo.: Daniel J. Castillo García

Con fecha 4 de octubre de 2017 la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado, a la vista de los votos emitidos de manera anónima por el tribunal que ha juzgado la tesis, resuelve:

- [X] Conceder la Mención de "Cum Laude"
[ ] No conceder la Mención de "Cum Laude"

FIRMA DEL ALUMNO,

La Secretaria de la Comisión Delegada

[Signature]

[Signature] Fdo.: SUSANA TELLO

14 La calificación podrá ser "no apto" "aprobado" "notable" y "sobresaliente". El tribunal podrá otorgar la mención de "cum laude" si la calificación global es de sobresaliente y se emite en tal sentido el voto secreto positivo por unanimidad.

INCIDENCIAS / OBSERVACIONES:

31/04/2024

no se pudo

no se pudo

no se pudo

no se pudo

no se pudo

En aplicación del art. 14.7 del RD. 99/2011 y el art. 14 del Reglamento de Elaboración, Autorización y Defensa de la Tesis Doctoral, la Comisión Delegada de la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado y Doctorado, en sesión pública de fecha 4 de octubre, procedió al escrutinio de los votos emitidos por los miembros del tribunal de la tesis defendida por TELLO BLASCO, SUSANA, el día 29 de septiembre de 2017, titulada *EVALUACIÓN DE LA DISFUNCIÓN AUTONÓMICA EN UN ESCENARIO CARDIOMETABÓLICO Y SU INTERACCIÓN CON LA EDAD, LA RIGIDEZ ARTERIAL, LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y EL ESTRÉS OXIDATIVO*, para determinar, si a la misma, se le concede la mención "cum laude", arrojando como resultado el voto favorable de todos los miembros del tribunal.

Por lo tanto, la Comisión de Estudios Oficiales de Posgrado **resuelve otorgar** a dicha tesis la

**MENCIÓN "CUM LAUDE"**

Alcalá de Henares, 10 de octubre de 2017

EL PRESIDENTE DE LA COMISIÓN DE ESTUDIOS  
OFICIALES DE POSGRADO Y DOCTORADO



Juan Ramón Velasco Pérez

**Copia por e-mail a:**

Doctorando: TELLO BLASCO, SUSANA

Secretario del Tribunal: RAMÓN ARROYO ESPLIGUERO.

Director de Tesis: JOSÉ SABÁN RUIZ



Programa de Doctorado en Medicina (D234 778/98)

**EVALUACIÓN DE LA DISFUNCIÓN AUTONÓMICA EN UN  
ESCENARIO CARDIOMETABÓLICO Y SU INTERACCIÓN CON LA  
EDAD, LA RIGIDEZ ARTERIAL, LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y EL  
ESTRÉS OXIDATIVO**

Tesis Doctoral presentada por

SUSANA TELLO BLASCO

2017

D. JOSÉ SABÁN RUIZ

Médico Internista y Responsable de la Unidad de Endotelio y  
Medicina Cardiometabólica.

Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

Profesor Asociado de la Facultad de Medicina.

Universidad Alcalá de Henares. Madrid.

CERTIFICA:

Que el trabajo titulado **“Evaluación de la disfunción autonómica en un escenario cardiometabólico y su interacción con la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo”** ha sido realizado por D<sup>a</sup> SUSANA TELLO BLASCO bajo mi dirección y supervisión y reúne la calidad, interés y requisitos legales exigidos para ser defendido en público como Tesis Doctoral, en orden a la consecución del grado de Doctor en Medicina.

Y para que conste se expide el siguiente certificado en Madrid a  
10 de marzo de dos mil diecisiete.

A handwritten signature in blue ink, consisting of several overlapping loops and lines, positioned at the bottom center of the page.

**Melchor Álvarez de Mon Soto, Catedrático de Medicina y Director del  
Departamento de Medicina y Especialidades Médicas**

**INFORMA QUE:**

En su opinión, el trabajo de investigación presentado por D<sup>a</sup>. **Susana Tello Blasco** titulado “**Evaluación de la disfunción autonómica en un escenario cardiometabólico y su interacción con la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo**”, realizado bajo la dirección del Dr. D. José Sabán Ruiz, reúne los requisitos científicos, metodológicos, formales y de originalidad suficientes para ser defendido como Tesis Doctoral ante el Tribunal que legalmente proceda.

Y para que conste donde corresponda, a los efectos oportunos, se firma la presente en Alcalá de Henares a veinticuatro de marzo de dos mil diecisiete.





Programa de Doctorado en Medicina (D234 778/98)

**EVALUACIÓN DE LA DISFUNCIÓN AUTONÓMICA EN UN  
ESCENARIO CARDIOMETABÓLICO Y SU INTERACCIÓN CON LA  
EDAD, LA RIGIDEZ ARTERIAL, LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y EL  
ESTRÉS OXIDATIVO**

Tesis Doctoral presentada por

**SUSANA TELLO BLASCO**

Director:

**DR. JOSÉ SABÁN RUIZ**

Alcalá de Henares, 2017

A mis padres, MariCarmen y Paco,  
A mi hermana Cristina,  
A mis hijas Carla y Adriana  
Y a mi marido Eduardo,  
por el apoyo y cariño constante en la andadura de mi vida.



## AGRADECIMIENTOS

A mi director de tesis, el Dr. José Sabán Ruiz, mi más sincero agradecimiento por su ayuda constante, su entrega y dedicación. Por sus conocimientos, sus orientaciones, su claridad de ideas, su excepcional y brillante capacidad de análisis y su perseverancia en la búsqueda de la excelencia. Por todo ello, por su apoyo, amistad y dirección, imprescindibles para la realización de esta tesis.

A Martín, por aportar luz en los interminables y complejos caminos de la estadística y de la metodología científica, por el tiempo dedicado, por sus consejos y su paciencia.

A los maravillosos profesionales de la Unidad de Endotelio y Medicina Cardiometabólica del hospital Universitario Ramón y Cajal de Madrid, con los que he tenido la suerte de compartir profesional y personalmente estos años, que se han convertido en un periodo muy importante de mi vida.

A Angélica Fernández, Asunción Guerri, Jose Luis Puerta, Jose Machín y Raju Daryanani, excelentes médicos, compañeros y amigos, por su firme y generosa ayuda y amistad.

A mi familia, en especial a mi marido Eduardo, por cada día, por completar y dar serenidad a mi vida, por hacer fácil lo difícil y por estar ahí siempre que lo necesito. A mis hijas, por el amor continuo que me regalan y por su paciencia con las horas de trabajo que a ellas les correspondían. A mi hermana, por su apoyo incondicional y cariño infinito, por todo lo compartido y por lograr hacerme sonreír ante la dificultad. A mi abuelo Carlos, hombre extraordinario que tanto me enseñó, presente siempre en mi corazón. A mis padres, los mejores que un hijo puede tener, por su ejemplaridad como personas, por su entrega constante y desinteresada, modelo de integridad, honestidad y capacidad de sacrificio, por su consejo y guía, por su amor en todo lo que hago y en todo lo que soy.

## RESUMEN

**Introducción:** La disfunción autonómica se asocia con un aumento de morbimortalidad de causa cardiovascular y de muerte súbita de origen cardíaco. En la génesis de este trastorno se postulan tres hipótesis (metabólica, vascular y oxidativa) que podrían no ser independientes sino complementarias. Existe aún un gran desconocimiento acerca de la relación entre disfunción autonómica, disfunción endotelial, rigidez arterial y muy especialmente con el estrés oxidativo, entidades en las que el factor edad está estrechamente relacionado.

**Objetivos:** Evaluar el papel de la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo como factores determinantes de disfunción autonómica, estudiada de forma no invasiva mediante la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) en reposo y tras estímulo, en una población con un amplio espectro de riesgo cardiovascular. Así mismo, se analizarán las diferencias clínicas, antropométricas, hemodinámicas y metabólicas de los pacientes según la presencia o no de neuropatía autonómica cardíaca.

**Metodología:** Se realizó un estudio observacional, retrospectivo, de corte transversal en una población con patología cardiovascular o un factor de riesgo clásico que tuviera un estudio de biomarcadores de disfunción endotelial (ADMA, PAI-1), inflamación (adiponectina, rsTNF- $\alpha$  2, resistina) y estrés oxidativo (TBARS), además de una evaluación de rigidez arterial y disfunción autonómica durante el período de enero de 2009 a marzo de 2012. La función autonómica se evaluó por VFC en test basal (índice vagal en reposo - RMSSDn, potencia en la banda de alta y baja frecuencia) y en test dinámicos (índice vagal en respiración profunda - RMSSDp, ratio Valsalva y ratio 30:15). Se dividió a la población en dos grupos (según la presencia o no de neuropatía ajustada por edad y sexo) para el análisis uni y multivariante de las citadas variables y de otras de interés como la proteína C reactiva (marcador clásico de inflamación). Adicionalmente se estratificó en daño bajo, medio o alto de acuerdo a terciles de los biomarcadores para evaluar de forma conjunta el estrés oxidativo y la disfunción

endotelial. Análisis estadístico: t-Student, U de Mann-Whitney, Kolmogorov-Smirnov, Chi cuadrado, test de ANOVA, correlación lineal y regresión lineal múltiple.

**Resultados:** La población final fue de N=87, de los que 32,2% en test basal y 26,4% en test dinámicos presentaron datos de disfunción autonómica. No hubo diferencias según la edad ya que los diferentes test autonómicos fueron analizados corregidos por edad. Hubo asociación significativa ( $p=0,046$ ) en los test dinámicos con el sexo mujer (56,5% mujeres en el grupo patológico vs 23,8% en el grupo normal). La frecuencia cardíaca fue mayor en el grupo con neuropatía de manera significativa. Se observó una tendencia a la asociación con la diabetes. Sí fue significativa la asociación con la prediabetes en el test basal ( $p=0,008$ ), con A1C en ambos test y con la enfermedad coronaria en los test dinámicos ( $p<0,001$ ). La correlación negativa significativa entre la rigidez arterial y RMSSDn, potencia en la banda de baja y alta frecuencia y el ratio 30:15 desapareció en el análisis multivariante al incluir la edad y el sexo. El tercil superior de TBARS se asoció a menor VFC con RMSSDn y la potencia en la banda de alta frecuencia de forma significativa ( $p=0,017$ ) e independientemente de la edad y el sexo. La correlación lineal entre TBARS y rTNF- $\alpha$  2 resultó muy significativa con una  $p<0,001$ . En el estudio de daño estratificado por TBARS y rTNF- $\alpha$  2, la potencia en la banda de alta frecuencia mostró una tendencia a la asociación, al igual que TBARS y ADMA en los test basales no explicables por la edad. En el análisis multivariante la relación entre la disfunción por la potencia en la banda de alta frecuencia, TBARS y rigidez arterial (medida por IAx-75) resultó independiente del sexo y la edad. La VFC medida por el ratio 30:15 se asoció de manera significativa con la diabetes, la edad y el sexo, independientemente de log TBARS y rigidez arterial. La disfunción autonómica se asoció con los niveles de proteína C reactiva (PCR) de forma significativa en el test basal, y limítrofe con el sexo.

**Conclusiones:** La prediabetes y no solo la diabetes se asoció a disfunción autonómica de manera significativa. Esta asociación es un hallazgo previamente no conocido. La disfunción autonómica y la PCR están asociadas aunque de forma significativa solo en situación basal. Su relación con el sexo, en el límite de la significación, podría explicar algunos de los hallazgos encontrados previamente en relación con el género pero su

inespecificidad no nos permite extraer conclusiones adicionales. Su falta de correlación con los biomarcadores nos hace sospechar que sus potenciales implicaciones patogénicas son bajas en cuanto a la disfunción autonómica se refiere. La hipótesis metabólica sola no explica la disfunción autonómica en un escenario como el nuestro, las hipótesis vascular y oxidativa son claves para entender el proceso en aras de su prevención. La rigidez arterial, la disfunción autonómica y la disfunción endotelial constituyen la triada esencial que explicaría que el “factor edad” sea el de mayor impacto cardiovascular de todos los conocidos pero el presente trabajo pone de manifiesto que hay una interacción entre estos componentes del ámbito cardiometabólico entre sí y de cada uno de ellos con la disfunción autonómica que es independiente de la edad.

**Palabras clave:** disfunción autonómica, variabilidad de la frecuencia cardíaca, test basal y dinámicos, riesgo cardiovascular, edad, diabetes, rigidez arterial, biomarcadores de disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo.

## ABSTRACT

**Introduction:** Autonomic dysfunction is associated with an increase in cardiovascular morbidity and mortality and sudden cardiac death. In the genesis of this disorder, three hypotheses are postulated (metabolic, vascular and oxidative) that may not be independent but complementary. There is still a great deal of ignorance about the relationship between autonomic dysfunction, endothelial dysfunction, arterial stiffness and especially with oxidative stress, entities in which the age factor is closely related.

**Objectives:** To evaluate the role of age, arterial stiffness, endothelial dysfunction and oxidative stress as determinants of autonomic dysfunction, noninvasively studied by heart rate variability (HRV) at rest and after stimulation, in a population with a broad spectrum of cardiovascular risk. Likewise, we will analyze the clinical, anthropometric, hemodynamic and metabolic differences of the patients according to the presence or absence of cardiac autonomic neuropathy.

**Methods:** An observational, retrospective cross-sectional study was performed in a population with cardiovascular disease or a classical risk factor that had a study of endothelial dysfunction biomarkers (ADMA, PAI-1), inflammation (adiponectin, rsTNF- $\alpha$  2, resistin and oxidative stress (TBARS), as well as an evaluation of arterial stiffness and autonomic dysfunction during the period from January 2009 to March 2012. The autonomic function was evaluated by HRV in the basal test (resting vagal index - RMSSDn, power in the high and low frequency bands) and in dynamic tests (vagal index in deep breathing - RMSSDp, Valsalva ratio and 30:15 ratio). The population was divided into two groups (according to the presence or absence of age and sex-adjusted neuropathy) for the univariate and multivariate analysis of these variables and others of interest such as C-reactive protein (classical marker of inflammation). Additionally it was stratified in low, medium or high damage according to tertiles of the biomarkers to jointly evaluate oxidative stress and endothelial dysfunction. Statistical analysis: t-Student, U Mann-Whitney, Kolmogorov-Smirnov, Chi square, ANOVA test, linear correlation and multiple linear regression.

**Results:** The final population was N = 87, 32.2% in the baseline test and 26.4% in the dynamic test presented data on autonomic dysfunction. There were no differences according to age since the different autonomic tests were analyzed adjusted for age. There was a significant association ( $p = 0.046$ ) in the dynamic tests with the female sex (56.5% women in the pathological group vs 23.8% in the normal group). The heart rate was significantly higher in the neuropathy group. There was a trend toward association with diabetes. The association with prediabetes in the baseline test was significant ( $p = 0.008$ ), unlike A1C in both tests and coronary disease in the dynamic tests ( $p < 0.001$ ). The significant negative correlation between arterial stiffness and RMSSDn, power in the low and high frequency band, and the 30:15 ratio disappeared in the multivariate analysis by including age and sex. The upper tertile of TBARS was associated with lower HRV with RMSSDn and power in the high frequency band significantly ( $p = 0.017$ ) and regardless of age and sex. The linear correlation between TBARS and rsTNF- $\alpha$  2 was very significant ( $p < 0.001$ ). In the study of stratified damage by TBARS and rsTNF- $\alpha$  2, power in the high frequency band showed a tendency to association, as did TBARS and ADMA in the basal tests not explainable by age. In the multivariate analysis, the relationship between power frequency dysfunction in the high frequency band, TBARS and arterial stiffness (measured by IAx-75) was independent of gender and age. The HRV measured by the 30:15 ratio was significantly associated with diabetes, age and sex, regardless of TBARS and arterial stiffness. Autonomic dysfunction was associated with C-reactive protein (CRP) levels significantly in the baseline test, and borderline with sex.

**Conclusions:** Prediabetes and not only diabetes was significantly associated with autonomic dysfunction. This association is a previously unknown finding. Autonomic dysfunction and CRP are associated but significantly only at baseline. Its relation to sex, at the limit of significance, could explain some of the findings previously found in relation to gender, but its non-specificity does not allow us to draw additional conclusions. Their lack of correlation with biomarkers makes us suspect that their potential pathogenic implications are low in terms of autonomic dysfunction. Metabolic hypothesis alone does not explain autonomic dysfunction in a scenario like ours, vascular and oxidative hypotheses are key to understanding the process and

prevent it. Arterial stiffness, autonomic dysfunction and endothelial dysfunction constitute the essential triad that would explain that the "age factor" is the one with the greatest cardiovascular impact of all known but the present study shows that there is an interaction between these components of the cardiometabolic domain between each other and each of them with autonomic dysfunction that is independent of age.

**Keywords:** autonomic dysfunction, heart rate variability, basal and dynamic tests, cardiovascular risk, age, diabetes, arterial stiffness, biomarkers of endothelial dysfunction, inflammation and oxidative stress.

# INDICE

<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>XVII</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE CONOCIMIENTOS .....</b>	<b>1</b>
1.1. GENERALIDADES .....	2
1.2. DISFUNCIÓN AUTONÓMICA CARDÍACA .....	5
1.2.1. Introducción .....	5
1.2.2. Prevalencia .....	5
1.2.3. Abordaje de la patogenia de la disfunción autonómica y su análisis dentro de un contexto cardiometabólico .....	5
1.2.4. Sintomatología y principales problemas relacionados con la NAC.....	8
1.2.4.1. Hipotensión ortostática .....	8
1.2.4.2. Alteración de la frecuencia cardíaca e intolerancia al ejercicio .....	9
1.2.4.3. Eventos cardiovasculares e isquemia silente .....	9
1.2.4.4. Aumento de la mortalidad .....	10
1.2.5. Diagnóstico .....	10
1.2.5.1. Análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca.....	13
a) Test en situación basal: VFC en reposo .....	14
a1.) Patrón de respiración normal: medidas en el dominio del tiempo y de la frecuencia.....	15
b) Test dinámicos: VFC tras estímulo .....	19
b1.) Patrón de respiración profunda: medidas en el dominio del tiempo .....	19
b2.) Maniobra de Valsalva .....	20
b3.) Maniobra de bipedestación .....	20
1.3. RIGIDEZ ARTERIAL.....	20
1.3.1. Análisis de onda de pulso (PWA).....	22
1.3.2. Velocidad de onda de pulso (PWV).....	22
1.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL .....	23
1.4.1. Dimetil arginina asimétrica (ADMA).....	24
1.4.2. Inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) .....	24
1.5. INTERACCIÓN DE LA INFLAMACIÓN Y METAINFLAMACIÓN CON LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL.....	25
1.5.1. Generalidades .....	25
1.5.2. Proteína C reactiva (PCR) .....	25
1.5.3. Adipoquinas.....	26
1.5.3.1. Adiponectina .....	27
1.5.3.2. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ).....	27
1.5.3.3. Resistina .....	28
1.6. ESTRÉS OXIDATIVO .....	29
1.6.1. Generalidades .....	29
1.6.2. Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) .....	30
1.7. RELACIÓN ENTRE DISFUNCIÓN AUTONÓMICA CARDÍACA Y ESTRÉS OXIDATIVO .....	30
1.7.1. Estudios en modelos experimentales .....	31
1.7.2. Estudios en humanos .....	33
1.8. EL LUGAR PREEMINENTE DEL FACTOR EDAD EN LA EVALUACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR Y SU POTENCIAL ASOCIACIÓN CON TODOS LOS PROCESOS ANTERIORES.....	34



<b>2. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO .....</b>	<b>36</b>
2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	37
2.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS .....	38
2.2.1. Hipótesis de trabajo .....	38
2.2.2. Objetivos .....	38
2.2.2.1. Principal.....	38
2.2.2.2. Secundarios .....	39
<b>3. METODOLOGIA .....</b>	<b>40</b>
3.1. CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO.....	41
3.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO .....	41
3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN .....	41
3.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.....	41
3.5. TAMAÑO MUESTRAL .....	42
3.6. PROCEDIMIENTOS .....	43
3.7. ASPECTOS ÉTICOS.....	50
3.8. ANÁLISIS DE DATOS .....	50
3.9. MEDIOS Y RECURSOS MATERIALES DISPONIBLES .....	52
<b>4. RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN.....	54
4.2. RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN (CLÍNICAS, ANTROPOMÉTRICAS, HEMODINÁMICAS Y METABÓLICAS) Y LA NEUROPATÍA AUTONÓMICA CARDÍACA.....	64
4.2.1. Características de la población y hallazgos en el test basal.....	65
4.2.2. Características de la población y hallazgos en los test dinámicos .....	67
4.3. RELACIÓN ENTRE NEUROPATÍA AUTONÓMICA CARDÍACA Y RIGIDEZ ARTERIAL .....	71
4.4. RELACIÓN ENTRE NAC Y BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO (TBARS), DISFUNCIÓN ENDOTELIAL (ADMA Y PAI-1) Y ADIPOQUINAS (ADIPONECTINA, TNF- $\alpha$ , RESISTINA).....	80
4.4.1. Relación entre NAC en test basal y estrés oxidativo medido por TBARS .....	81
4.4.2. Relación entre NAC en test basal y biomarcadores de disfunción endotelial (ADMA y PAI-1) .....	81
4.4.3. Relación entre NAC en test basal y adipoquinas (Adiponectina, TNF- $\alpha$ y resistina). .....	82
4.4.4. Relación entre NAC en test dinámicos y biomarcadores.....	82
4.5. EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LA PCR-us CON LOS TEST NEUROLÓGICOS, HEMODINÁMICOS Y BIOMARCADORES .....	89
4.6. ANALISIS MULTIVARIANTE DE LA ASOCIACIÓN ENTRE NAC Y LOS FACTORES ESTUDIADOS.....	91
<b>5. DISCUSIÓN.....</b>	<b>94</b>
<b>6. CONCLUSIONES.....</b>	<b>105</b>
<b>7. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>112</b>

<b>8. ANEXOS .....</b>	<b>136</b>
8.1. ANEXO I: ANÁLISIS DE ONDA DE PULSO .....	137
8.2. ANEXO II: VELOCIDAD DE ONDA DE PULSO.....	140
8.3. ANEXO III: VFC: RANGOS DE NORMALIDAD PARA VFC AJUSTADOS POR EDAD Y SEXO. ....	141

# INDICE DE TABLAS Y FIGURAS

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fisiología del Sistema Nervioso Autónomo Simpático y Parasimpático. Adaptado de “Trastornos del Sistema nervioso autónomo”. Low PA, Engstrom JW. 2008.....	3
Tabla 2. Tests de función autonómica cardiovascular. Adaptado de “Evaluación del sistema nervioso autónomo”. Morillo CA, et al. 2005.....	13
Tabla 3. Parámetros para las medidas de la variabilidad RR en el dominio del tiempo (siglas en español y en literatura anglosajona). Adaptado de “Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en la monitorización ambulatoria del electrocardiograma y presión arterial”. Plama Gámiz et al, 2000 (89). ....	15
Tabla 4. Parámetros para las medidas de la variabilidad RR en el dominio de la frecuencia (siglas en literatura anglosajona). Adaptado de “Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en la monitorización ambulatoria del electrocardiograma y y presión arterial”. Plama Gámiz et al, 2000 (89).....	18
Tabla 5. Características basales de la población de estudio (N=87). Variables numéricas descritas mediante media (desviación típica), [mínimo; máximo]. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%). ....	56
Tabla 6. Medidas de VFC en reposo en el dominio del tiempo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	57
Tabla 7. Medidas de VFC en reposo en el dominio de la frecuencia. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	57
Tabla 8. Características de la población: diabetes, edad y sexo y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). Variables numéricas descritas como media y y desviación típica. ....	58
Tabla 9. Estadío prediabético y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). ....	59
Tabla 10. Medidas de VFC en respiración profunda en el dominio del tiempo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.....	60
Tabla 11. Medidas de VFC en Valsalva. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	60
Tabla 12. Medidas de VFC en bipedestación. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	61
Tabla 13. Características de la población: diabetes, edad y sexo y su asociación con NAC en test dinámicos en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). Variables numéricas descritas como media y desviación típica. ....	62
Tabla 14. Estadío prediabético y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). ....	62
Tabla 15. Características basales de la población de estudio y su relación con la presencia o no de NAC global en los test basales. Variables numéricas descritas mediante media $\pm$ desviación típica. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%). ....	67
Tabla 16. Características basales de la población de estudio y su relación con la presencia o no de NAC global en los test dinámicos. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%). ....	69

Tabla 17. Correlación lineal entre la edad y las distintas variables de medida de la VFC. r: coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. ....	70
Tabla 18. Asociación entre el sexo y las distintas variables de medida de la VFC. *M: mujeres;** V: varones. p: significación estadística. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. ....	70
Tabla 19. Niveles de rigidez arterial en la población de estudio, medida por análisis y velocidad de onda de pulso. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	71
Tabla 20. Correlación lineal entre la rigidez arterial medida por IAx-75 (en %) y la edad (en años). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. ....	72
Tabla 21. Asociación entre la rigidez arterial medida por IAx-75 (en %) y el sexo. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. ....	72
Tabla 22. Relación global de datos de NAC en test basal con rigidez arterial medida por métodos no invasivos (análisis y velocidad de onda de pulso). Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	74
Tabla 23. Relación global de datos de NAC en test dinámicos con rigidez arterial medida por métodos no invasivos (análisis y velocidad de onda de pulso). Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	74
Tabla 24. Correlación lineal entre Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %) y los distintos índices de la VFC en los test basal y dinámicos. RMSSDn: índice vagal en patrón de respiración normal. RMSSDp: índice vagal en patrón de respiración profunda. r: coeficiente de correlación de Pearson, p: significación estadística. ....	75
Tabla 25. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 e Índice vagal en test basal (RMSSDn, en ms) ajustado por edad y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	78
Tabla 26. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y potencia en la banda de baja frecuencia (LF), en $ms^2$ , ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	78
Tabla 27. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y potencia en la banda de alta frecuencia (HF), en $ms^2$ , ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	78
Tabla 28. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 e Índice vagal en test dinámicos de respiración profunda (RMSSDp), en ms, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	79
Tabla 29. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y ratio Valsalva, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	79
Tabla 30. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y ratio Valsalva, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo. ....	79
Tabla 31. Niveles de biomarcadores en la población de estudio (N=87). Variables numéricas descritas como media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	80
Tabla 32. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) de los biomarcadores con la edad (años). * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	80
Tabla 33. Diferencias en niveles de biomarcadores entre hombre y mujeres, comparaciones mediante t-Student para muestras independientes. Variables numéricas descritas como	

media y desviación típica. Se objetivó significación estadística para las variables adiponectina y ADMA.....	81
Tabla 34. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con TBARS como biomarcador de estrés oxidativo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	81
Tabla 35. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con los biomarcadores de disfunción endotelial. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	82
Tabla 36. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con las adipoquinas. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. ....	82
Tabla 37. Relación de hallazgos de NAC global en test tras estímulo, con biomarcadores. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	83
Tabla 38. Puntos de corte para la distribución por terciles de los niveles de logTBARS. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	84
Tabla 39. Relación entre la pertenencia al tercil inferior o superior del log TBARS y las variables de medida de VFC en los test basal y dinámicos. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Se objetivó significación estadística para las variables RMSSDn y potencia en la banda HF. ....	84
Tabla 40. Evaluación del efecto de edad y sexo en la relación entre RMSSDn y tercil inferior/superior de logTBARS. Límitrofe para la significación estadística independientemente de edad y sexo. ....	85
Tabla 41. Evaluación del efecto de edad y sexo en la relación entre la potencia en la banda de HF y Tercil inferior/superior de logTBARS. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Significación estadística independientemente de edad y sexo. ....	85
Tabla 42. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson, r) entre estrés oxidativo medido por logTBARS y biomarcadores. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Significación estadística para rsTNF- $\alpha$ 2 y límitrofe para ADMA. ....	86
Tabla 43. Puntos de corte por terciles para los niveles de ADMA. ....	86
Tabla 44. Estratificación de daño (estrés oxidativo+disfunción endotelial) de acuerdo a la pertenencia a los terciles de logTBARS y ADMA. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	86
Tabla 45. Correlación entre los parámetros de medida de VFC en los test basal y dinámicos y la categoría de daño alto o bajo para la asociación logTBARS y ADMA arriba definida. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Límitrofe para la significación estadística los parámetros del test basal, principalmente la potencia en la banda de baja frecuencia. ....	87
Tabla 46. Puntos de corte por terciles para los niveles de rsTNF- $\alpha$ 2. ....	88
Tabla 47. Estratificación de daño (estrés oxidativo + disfunción endotelial) de acuerdo a la pertenencia a los terciles de logTBARS y rsTNF- $\alpha$ 2. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	88

Tabla 48. Correlación entre los parámetros de medida de VFC en los test basal y dinámicos y la categoría de daño alto o bajo para la asociación logTBARS y rsTNF- $\alpha$ 2 arriba definida. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Límite para la significación estadística los parámetros del test basal, principalmente la potencia en la banda de baja frecuencia. ....	89
Tabla 49. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y la edad (en años). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. ....	90
Tabla 50. Asociación entre los niveles de PCR-us, en mg/L y el sexo. M*: mujeres, V**: varones. p: significación estadística. PCR-us: variable numérica descrita como media y desviación típica. ....	90
Tabla 51. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y los biomarcadores de disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo. r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	90
Tabla 52. Relación entre la pertenencia al tercil inferior o superior del log TBARS, en $\mu$ M/L y los niveles de PCR-us, en mg/L. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. ....	91
Tabla 53. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y la rigidez arterial medida por IAx-75 (%). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. ....	91
Tabla 54. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre la potencia en la banda de alta frecuencia (en $ms^2$ ), los niveles de logTBARS y la rigidez arterial medida por IAx-75, en %, ajustado por edad y sexo. * Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Tendencia a la asociación con logTBARS y IAx-75. ....	92
Tabla 55. Correlación multivariante ( $\beta$ no estandarizada): relación entre el ratio 30:15 y la presencia o no de diabetes ajustado por edad y sexo. Estadísticamente significativo para edad y sexo, límite para diabetes. ....	93

## INDICE DE FIGURAS

Fig 1. Sistema Nervioso Autónomo: inervación cardíaca. Adaptado de “Fisiología del Sistema nervioso autónomo”. Silva Costa Gomes, T. 2012. ....	4
Fig 2. Distribución de la población de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basales (evaluado por RMSSDn y potencia en la banda de baja y alta frecuencia) según la presencia de indicios de NAC y su estratificación (NAC, NAC límite o normal). Descrito en porcentaje (%). ....	59
Fig 3. Distribución de la población de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test dinámicos (evaluado por RMSSDp, Valsalva y bipedestación) según la presencia de indicios de NAC y su estratificación (NAC, NAC límite o normal). Descrito en porcentaje (%). ....	62
Fig 4. Distribución de la población según la presencia de indicios de NAC, y su estratificación (NAC, NAC límite o normal), de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basal vs test dinámicos. Descrito en porcentaje (%). ....	63
Fig 5. Distribución de la población según la presencia de indicios de NAC global (establecida + límite) o normalidad, de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basal vs test dinámicos. Descrito en porcentaje (%). ....	64
Fig 6. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson, r) entre entre edad (años) y ratio 30:15. ....	71

Fig 7. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %). .....	72
Fig 8. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) en varones e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %). .....	73
Fig 9. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) en mujeres e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %). .....	73
Fig 10. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre Índice vagal en test basal (representado en la figura como RMSSDn, en ms) y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %. .....	75
Fig 11. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre la Potencia en la banda de baja frecuencia (LF), en ms y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %. .....	76
Fig 12. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre la Potencia en la banda de alta frecuencia (HF), en ms y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %. .....	76
Fig 13. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre el ratio 30:15 y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %. .....	77

# **LISTA DE ABREVIATURAS**

---



## LISTA DE ABREVIATURAS<sup>1</sup>

ADA	American Diabetes Association
ADMA	Dimetil arginina asimétrica
AIx (IAx)	Índice de aumento
AIx-75 (IAx-75)	Índice de aumento corregido a 75 lpm
Aortic DP	Presión diastólica central
Aortic SP	Presión sistólica central
AP	Aumento de presión
ATP-IV	Adult treatment panel-IV
CAT	Catalasa
CYS	Cisteína
DP (PD)	Presión diastólica
ECV	Enfermedad cardiovascular
ED (DE)	Duración de eyección
GEH	Glutation
GPx	Glutation peroxidasa
HR (FC)	Frecuencia cardíaca
HF	Alta frecuencia
HOCl	Ácido hipocloroso
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrógeno
Hz	Herzio
IAM	Infarto agudo de miocardio
IMC	Índice de masa corporal
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
LF	Baja frecuencia
LOO	Peroxilo lipídico
LOOH	Peróxido lipídico

---

<sup>1</sup> En los casos en que se utiliza de manera habitual la nomenclatura anglosajona y española se hace referencia en primer lugar a la anglosajona y a continuación la española referenciada entre paréntesis

MDA	Malondialdehído
MP (PM)	Presión media
NAC	Neuropatía autonómica cardíaca
NACbasal	Neuropatía autonómica detectada en test basal
NACdinámico	Neuropatía autonómica detectada en test dinámicos
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintetasa
n.u.	Unidades normalizadas
O	Oxígeno monoatómico
O <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Superóxido
O <sub>3</sub>	Ozono
OH	Hidroxilo
OMS	Organización Mundial de la Salud
PAI-1	Inhibidor del activador del plasminógeno
PCR	Proteína C reactiva
PCR-us	PCR ultrasensible
PWA	Análisis de onda de pulso
PP	Presión de pulso
PWV	Velocidad de onda de pulso
RMSSD	Índice vagal
RMSSDn	Índice vagal en respiración normal
RMSSDp	Índice vagal en respiración profunda
RO <sub>2</sub>	Peroxilo
ROS	<i>Reactive oxygen species</i> – Especies reactivas de oxígeno
RS	Tiol
rTNF-α 1	Receptor 1 del factor de necrosis tumoral alfa
rTNF-α 2	Receptor 2 del factor de necrosis tumoral alfa
rsTNF-α 1	Receptor soluble 1 del factor de necrosis tumoral alfa
rsTNF-α 2	Receptor soluble 2 del factor de necrosis tumoral alfa
SASP	<i>senescent-associated secretory phenoty</i>
SM	Síndrome metabólico
SNA	Sistema Nervioso Autónomo

SNS	Sistema Nervioso Simpático
SNP	Sistema Nervioso Parasimpático
SP (PS)	Presión sistólica
SOD	Superóxido dismutasa
TBARS	Especies reactivas a ácido tiobarbitúrico
TF (T)	Período
TNF - $\alpha$	Factor de necrosis tumoral alfa
TP (PT)	Potencia total
ULF	Ultra baja frecuencia
VFC	Variabilidad de la frecuencia cardíaca
VLF	Muy baja frecuencia

# 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE CONOCIMIENTOS

---

# 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE CONOCIMIENTOS

## 1.1. GENERALIDADES

La enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en el mundo. En nuestro país, según los últimos datos del Instituto Nacional de Estadística publicados en marzo de 2016, la mortalidad de causa cardiovascular en el año 2014 constituyó el 29,7% del total (1). Además cabe destacar que en los casos de mortalidad de origen cardíaco, una tercera parte de los infartos agudos de miocardio tuvieron como forma clínica de presentación la muerte súbita, careciendo los sujetos de antecedentes clínicos previos (2). Así mismo, varios estudios asocian la disfunción autonómica cardíaca con un aumento de la morbi-mortalidad de origen cardíaco y de muerte súbita (3-5). Los mecanismos que subyacen a la disfunción autonómica no han sido suficientemente investigados y tanto la inflamación como la disfunción endotelial y el estrés oxidativo, muy prevalentes en un escenario cardiometabólico, podrían estar implicados tanto a nivel central como periférico.

El sistema nervioso autónomo (SNA) hace referencia al conjunto de neuronas y vías nerviosas que se extienden a lo largo de todo el eje encéfalo-espinal, desde donde ejerce su acción homeostática sobre todos los órganos y sistemas de acuerdo a las necesidades del organismo y es responsable de la respuesta adaptativa a los diferentes estímulos (externos o internos) (6, 7). De este modo, ejerce su mecanismo regulador sobre el sistema cardiovascular, gastrointestinal, genitourinario, pupilar, sudomotor y neuroendocrino.

El SNA está compuesto por vías aferentes (recepción de estímulos), centros de integración (localizados en el tallo encefálico y en la corteza cerebral) y vías eferentes (salida de impulsos del sistema y control de las funciones psíquicas superiores). La vía eferente se divide en sistema nervioso simpático (SNS) y sistema nervioso parasimpático (SNP). Éstos a su vez constan de dos neuronas: preganglionares y posganglionares. Las neuronas preganglionares del SNS se encuentran en la médula espinal con salida a nivel de T1 (primer nervio torácico) hasta L2 (segundo lumbar),

mientras que las del SNP salen del sistema nervioso central a través del III, VII, IX y X par craneal y a nivel S2-S3 (segundo a tercer nervio sacro). Las neuronas posganglionares, situadas en ganglios autonómicos fuera del sistema nervioso central, inervan a través de los nervios posganglionares los distintos órganos y tejidos sobre los que el SNA ejerce su acción mediante distintos neurotransmisores y neuromoduladores (como la acetil colina y la noradrenalina). Ambos sistemas (SNS y SNP) inervan la mayoría de las vísceras, ejerciendo una acción coordinada y antagónica sobre las mismas, lo que permite un control de mayor precisión de las respuestas autonómicas (8, 9).

La acetilcolina es el neurotransmisor preganglionar tanto simpático como parasimpático, además del posganglionar parasimpático. A nivel posganglionar simpático se libera noradrenalina excepto en las glándulas sudoríparas y algunos vasos sanguíneos donde se libera acetilcolina (10).

A continuación se describen los distintos efectos fisiológicos de la activación del sistema nervioso autónomo (tabla 1), (11):

	<b>SNS</b>	<b>SNP</b>
<b>Frecuencia cardíaca</b>	Aumento	Disminución
<b>Presión arterial</b>	Aumento	Disminución leve
<b>Reactividad bronquial</b>	Broncodilatación	Broncoconstricción
<b>Motilidad intestinal</b>	Disminución	Intensificación
<b>Tono del esfínter vesical</b>	Aumento	Disminución
<b>Reflejo pupilar</b>	Midriasis	Miosis
<b>Glándulas sudoríparas</b>	Sudación	-
<b>Glandulas lagrimales</b>	-	Lagrimo
<b>Glandulas parótidas</b>	-	Salivación
<b>Glándulas suprarrenales</b>	Liberación de catecolaminas	-
<b>Función sexual</b>	Eyacuación, orgasmo	Erección

*Tabla 1. Fisiología del Sistema Nervioso Autónomo Simpático y Parasimpático. Adaptado de "Trastornos del Sistema nervioso autónomo". Low PA, Engstrom JW. 2008.*

Evaluación de la disfunción autonómica en un escenario cardiometabólico y su interacción con la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo

La sintomatología asociada a la disfunción autonómica se debe bien a la pérdida de función, a la hiperreactividad o a la pérdida de la regulación de las vías arriba mencionadas.

El SNA, con sus componentes simpático y parasimpático, juega un importante papel en el control del sistema cardiovascular (fig.1), (12). Éste sistema, junto con el otro sistema homeostático por excelencia, el sistema endocrino, está dirigido a alcanzar una correcta sincronización entre el aporte del flujo sanguíneo y las necesidades metabólicas de los distintos órganos. Cuando existe un deterioro de dicho control hablamos de neuropatía o disfunción autonómica cardiovascular, a la que se hace referencia por el acrónimo NAC (13).

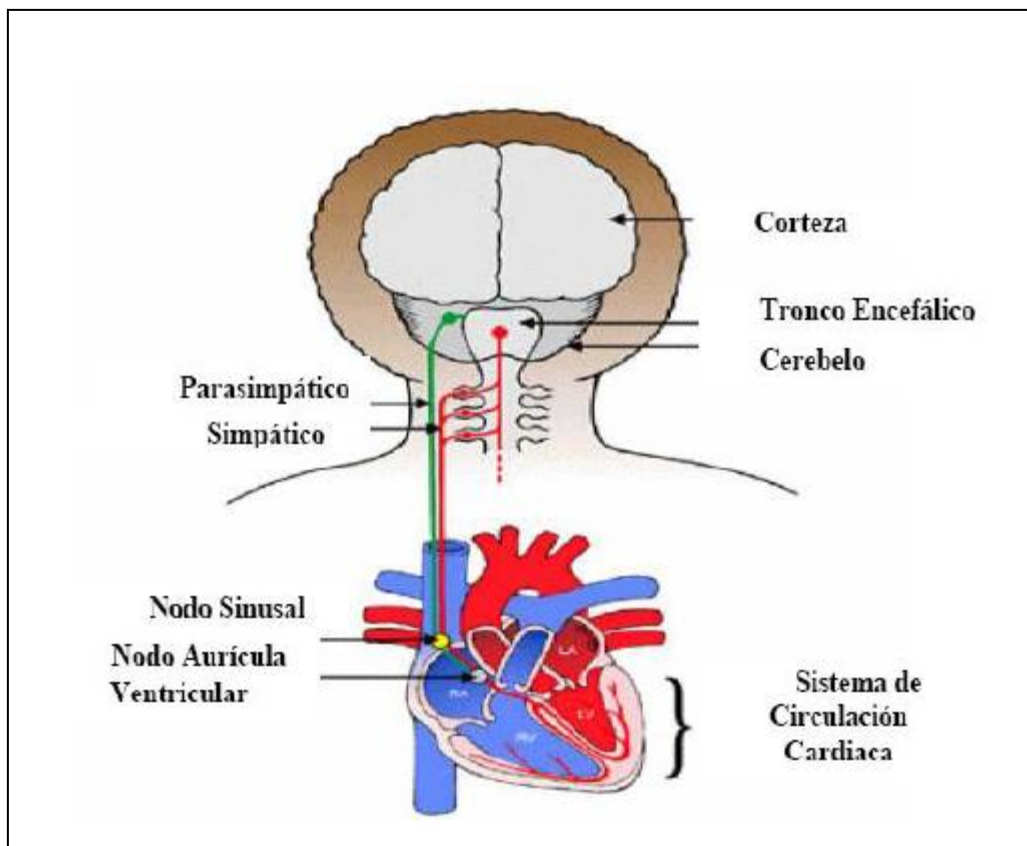


Fig 1. Sistema Nervioso Autónomo: inervación cardíaca. Adaptado de "Fisiología del Sistema nervioso autónomo". Silva Costa Gomes, T. 2012.

## **1.2. DISFUNCIÓN AUTONÓMICA CARDÍACA**

### **1.2.1. Introducción**

Aunque todos los órganos y tejidos pueden disfuncionar cuando hay afectación del SNA, en un escenario cardiometabólico el foco de mayor interés reside en la disfunción autonómica cardíaca.

### **1.2.2. Prevalencia**

La prevalencia de la NAC es muy variable (hasta de un 10 a un 90% si nos centramos en el paciente diabético) debido a la ausencia de estandarización de los test diagnósticos autonómicos así como del tipo de población (escaso número de pacientes con una amplia distribución a nivel mundial), lo que dificulta el conocimiento global acerca de la extensión de la enfermedad (14). El impacto de la edad en la NAC es tan consistente que en su evaluación siempre debe hacerse una corrección por la misma (15, 16). La explicación no es otra que con el paso del tiempo las neuronas implicadas van “envejeciendo” por un proceso de senescencia celular que es común a todo el organismo, con el agravante de que la neurona no puede ser recambiada (17, 18).

Revisados algunos de los estudios de prevalencia más relevantes, se infiere que la búsqueda activa de la enfermedad incrementa de manera significativa la prevalencia de la misma. Un estudio (19) realizado en Perú en 2007 en pacientes diabéticos tipo 2 a los que se les aplicaron cuatro pruebas para el diagnóstico de NAC, cifra su frecuencia en un 41,47% tras la realización de dichos test. Un porcentaje incluso más elevado se observa en un estudio publicado en 2008 en España (20), en el que tras aplicar un test para el diagnóstico de NAC a pacientes diabéticos tipo 2 el porcentaje de enfermedad se incrementa hasta un 54,4%.

### **1.2.3. Abordaje de la patogenia de la disfunción autonómica y su análisis dentro de un contexto cardiometabólico**

En cuanto a la génesis de la neuropatía diabética, de la que la disfunción autonómica forma parte, hemos aprendido numerosas lecciones en las últimas cuatro décadas, que



podríamos extrapolar en muchos aspectos a otros escenarios cardiometabólicos ya que la hiperglucemia es solo uno de los factores implicados. Por otra parte, la prediabetes es tres veces más frecuente que la propia diabetes y también cursa con hiperglucemia, de modo que todo lo aprendido en la diabetes podría ser extrapolado, al menos teóricamente, a la prediabetes asumiendo que el impacto de la glucemia siempre será menor, una regla que no aplica sin embargo en la macroangiopatía ya que el daño vascular de vaso grande es el mismo entre diabéticos tipo 2 de reciente diagnóstico que en prediabéticos (21).

En la génesis de la neuropatía diabética se postulan diferentes mecanismos agrupados en 3 hipótesis que podrían no ser independientes sino complementarias y que son: la hipótesis metabólica, la hipótesis vascular y la hipótesis oxidativa.

En primer lugar la hipótesis metabólica, centrada en el efecto de la hiperglucemia, que hace que aumenten las concentraciones de glucosa en el interior de la célula y la consiguiente activación de la vía enzimática aldolasa reductasa, también llamada vía de los polioles, para transformar la glucosa en fructosa y sorbitol, que produce hiperosmolaridad y edema. De manera compensatoria al aumento de sorbitol, se produce un descenso de otros osmolitos como el mioinositol, implicado en la alteración del equilibrio celular entre sustancias pro y antioxidantes y en la disminución de la actividad de la enzima Na K ATPasa relacionada con las alteraciones precoces de la velocidad de conducción nerviosa y posteriormente cambios estructurales en el nervio (22, 23).

La segunda hipótesis es la conocida como hipótesis isquémica hipóxica, basada en la existencia de un flujo sanguíneo nervioso reducido que conllevaría la producción de productos avanzados de la glicación, un descenso de la actividad del óxido nítrico y de forma secundaria una reducción aún mayor del flujo sanguíneo al nervio. Esta hipótesis ha quedado constatada en estudios experimentales y en modelos humanos, en los que intervenciones terapéuticas dirigidas a remediar los efectos del flujo sanguíneo reducido han sido eficaces en la prevención del enlentecimiento de la conducción nerviosa (24). Las alteraciones neurales consecuencia de la isquemia-hipoxia se han

objetivado mediante el estudio histopatológico de biopsias de tejido nervioso, observándose engrosamiento de la membrana basal vascular, hiperplasia de las células endoteliales, agregación plaquetaria y oclusión vascular (25, 26).

Por último, la tercera hipótesis combina las hipótesis previas (metabólica y vascular) conocidas como hipótesis clásicas y es en la que está fundamentada este trabajo. Se trata de la hipótesis oxidativa. Así, según esta teoría, el acúmulo de sorbitol alteraría el equilibrio redox intracelular (ver pág. 28), favoreciendo el daño celular por las especies reactivas de oxígeno (ROS) y a su vez la isquemia y la disfunción endotelial relacionada con ella, induciría la formación de nuevas ROS, que incrementaría el estrés oxidativo y el efecto nocivo sobre la célula (27-29). A todo lo anterior habría que añadir el proceso de autooxidación de la glucosa, un fenómeno que es doble, uno relacionado con la glicación de proteínas (por ejemplo la MBP, myelin basic protein) que tiene como producto intermedio el metil-glioxal, y otro no relacionado con la unión a proteínas, que tiene como producto intermedio el glioxal. Ambas formas de autooxidación generan ROS que se sumarían a las producidas por los mecanismos anteriores, pero especialmente este último ha sido recientemente relacionado con la senescencia celular por actuar a nivel de la telomerasa (30).

Todas las fibras pregangliónicas del SNA son mielínicas además de colinérgicas (también las del SNS) mientras las postgangliónicas son amielínicas, cortas las del SNP y largas las del SNS. Solo las pregangliónicas puede sufrir una glicación por ser mielínicas, pero tanto las pregangliónicas como las postgangliónicas pueden sufrir un proceso de autooxidación de la glucosa independiente de la unión a proteínas (31,32).

Este mecanismo oxidativo, ya ha sido descrito en enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Parkinson (33-35), la enfermedad de Alzheimer (36-38) o la esclerosis múltiple (39, 40), en las que el estrés oxidativo forma parte de los componentes desencadenantes de neurodegeneración y muerte cerebral que las caracterizan.

Otro aspecto de gran interés sería el relacionado con el estrés de retículo. En este sentido no debemos olvidar que la neurona posee un retículo endoplasmático muy desarrollado y que el estrés oxidativo está implicado en el llamado “estrés de retículo endoplasmático” y este condiciona enfermedad de la célula afectada con dos únicas salidas, la apoptosis (41, 42) o la autofagia (43, 44). Precisamente el estrés de retículo a nivel hipotalámico podría estar implicado en la génesis del síndrome metabólico (45).

#### **1.2.4. Sintomatología y principales problemas relacionados con la NAC**

La NAC es habitualmente silente desde el punto de vista clínico, pero algunos pacientes pueden presentar taquicardia de reposo o hipotensión ortostática como síntomas más característicos. Su importancia radica fundamentalmente en que con frecuencia se acompaña de isquemia silente, un subtipo de enfermedad coronaria que con un porcentaje superior al habitual desemboca en un desenlace fatal por el retraso diagnóstico que conlleva (46).

A continuación se exponen los principales problemas relacionados con la NAC:

##### **1.2.4.1. Hipotensión ortostática**

La hipotensión ortostática se caracteriza por sintomatología de mareo, visión borrosa, debilidad e incluso síncope, este último cuando la disminución de la presión arterial afecta al riego cerebral. Es la causa más frecuente por la que el paciente con NAC acude a consulta. Hace referencia a un descenso de la presión arterial sistólica de 20 o más mmHg y diastólica de 10 o más mmHg durante 3 minutos tras la bipedestación y traduce el mal funcionamiento simpático (fallo de la vasoconstricción) a nivel esplácnico y del lecho vascular periférico. Se puede considerar la manifestación más invalidante de la disfunción autonómica y su presencia se asocia además a un peor pronóstico en cuanto a tasas de mortalidad (47). Situaciones como la ingesta, un baño con agua tibia o la práctica de ejercicio, en las que está implicada la respuesta autonómica, pueden intensificar o desencadenar el cuadro de hipotensión de manera característica.

#### **1.2.4.2. Alteración de la frecuencia cardíaca e intolerancia al ejercicio**

En estos pacientes se produce una regulación simpática inadecuada, que conlleva una disminución del aumento del gasto cardíaco con la consiguiente intolerancia al ejercicio. Puede existir una taquicardia sinusal persistente y ausencia de adaptación de la frecuencia cardíaca en actividades como la respiración profunda o la maniobra de Valsalva, que en condiciones normales ocasionan un aumento del tono vagal parasimpático. Existe además predisposición a la llamada *arritmogénesis nocturna*, por aumento diurno del tono simpático y disminución del tono parasimpático en el descanso nocturno (48, 49). En el paciente diabético con neuropatía autonómica avanzada puede observarse una frecuencia cardíaca fija, normalmente entre 80 y 90 latidos por minuto (lpm), que refleja la denervación cardíaca y que se relaciona con menor dolor en caso de infarto de miocardio y muerte súbita (50). Este hecho fue constatado por primera vez en 1977, en el mítico trabajo de Isaac Faerman, diabetólogo argentino, que documentó histopatológicamente la denervación cardíaca en pacientes diabéticos fallecidos de muerte súbita (51).

#### **1.2.4.3. Eventos cardiovasculares e isquemia silente**

La relación entre NAC y eventos cardiovasculares de mayor mortalidad por acompañarse de isquemia silente, quedó suficientemente documentada en población diabética en la década de los 80 por Peter J. Watkins (52-54) y David J. Ewing. Este último conocido además por su sustancial aportación al diagnóstico tras postular la batería de los 5 tests autonómicos que constituirían más adelante gran parte de la base de las recomendaciones de las sociedades científicas para el cribado de esta enfermedad (55) (ver pág. 11).

En la actualidad, son múltiples los estudios que constatan la relación entre NAC e isquemia silente. El estudio DIAD, realizado en un total de 522 diabéticos tipo 2 sin coronariopatía conocida ni de sospecha a la inclusión, objetivó hallazgos compatibles con isquemia silente en un 22% de los casos (56). Otro estudio prospectivo de 120 diabéticos (que incluía además diabéticos tipo 1) sobre la aparición de eventos cardiovasculares, concluye, tras un seguimiento de cuatro años y medio, que los

pacientes con NAC tienen una incidencia significativamente mayor de eventos cardiovasculares que aquellos sin NAC conocida (57). Este hecho aparece de forma reiterada en otros estudios, tal y como se muestra tras la evaluación de 12 ensayos transversales en el metanálisis de Vinik et al (58), donde los pacientes diagnosticados de NAC tuvieron una frecuencia de isquemia silente significativamente mayor respecto de los que carecían de dicho diagnóstico.

#### **1.2.4.4. Aumento de la mortalidad**

La NAC en el paciente diabético representa una de las principales causas de morbimortalidad y se asocia con un alto riesgo de arritmias en relación a la disfunción autonómica arriba mencionada y a muerte súbita (59). La NAC es un predictor de muerte súbita, al menos en la población diabética, tal y como queda demostrado en dos importantes metaanálisis (60, 61). En el primero, se observó un aumento de mortalidad de un 5 a un 27% tras la aparición de resultados anormales en las pruebas de disfunción autonómica. En el segundo y más reciente, la magnitud de dicha asociación fue incluso mayor. En la misma línea, estudios como el ACCORD (62) han demostrado que la relación entre disfunción autonómica y mortalidad es independiente de la presencia de factores de riesgo cardiovascular. Dicha relación ha sido evaluada en el diabético, en varios estudios longitudinales, objetivándose una tasa de mortalidad acumulada en un período de 5 años de alrededor de un 30% en el paciente diabético con NAC (47, 63-66). Igualmente, el estudio prospectivo EURODIAB con más de 2.700 pacientes diabéticos tipo 1, mostró una tasa de mortalidad anual de 5 por cada 1.000 personas/año, siendo la neuropatía autonómica un factor de riesgo independiente de mayor valor que los clásicos conocidos y con una asociación estadísticamente significativa con la mortalidad (67).

#### **1.2.5. Diagnóstico**

La NAC es una patología de difícil diagnóstico, debido a la gran variabilidad y poca especificidad de su sintomatología, a la presencia de formas subclínicas e insidiosas y a las dificultades asociadas a la falta de consenso en cuanto a su definición y métodos de evaluación. Generalmente el diagnóstico se realiza en función de los resultados de una

batería de pruebas autonómicas, debido a la falta de evidencia de superioridad diagnóstica de ninguna de ellas (13, 68, 69). Estas pruebas se basan en los conocidos test de Ewing, desarrollados por dicho autor como se ha mencionado anteriormente como una batería de 5 pruebas consecutivas para el diagnóstico de disfunción autonómica, tres de ellas enfocadas a la valoración del funcionamiento del SNP mediante variaciones de la frecuencia cardíaca tras la maniobra de Valsalva, modificación del patrón de respiración o bipedestación y las otras dos enfocadas al SNS mediante las variaciones de la presión arterial tras la maniobra de bipedestación y contracción isométrica sostenida (70, 71).

En la actualidad, la mayoría de los test utilizados evalúan predominantemente la integridad del SNP, componente del SNA que se afecta de forma más precoz en la NAC (58, 72) y dentro de este grupo algunos de los más utilizados (que se detallan más adelante en este apartado), son los de medida de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) con la respiración profunda, medidas en la banda de media y alta frecuencia y la medida del ratio 30:15 tras la maniobra de bipedestación. Los test de evaluación de la integridad predominantemente del SNS son los de medida de la VFC en la banda de baja frecuencia y la medida del ratio Valsalva tras la citada maniobra. De entre todos ellos, destaca el test de VFC con patrón de respiración profunda como el de mayor sensibilidad y especificidad, que se cifra en torno al 87% y 98,6% respectivamente (73).

Según el primer documento de consenso elaborado en 1992 por la Asociación Americana de Diabetes (ADA, acrónimo de *American Diabetes Association*) y la Academia Americana de Neurología, se recomienda la realización de 3 test para el diagnóstico de la NAC: la variabilidad de la frecuencia cardíaca con la respiración profunda, la maniobra de Valsalva y los test de respuesta a cambios posturales (74). La relevancia de la medida de la VFC queda patente en el documento de 1996 elaborado por “The Task Force of the European Society of Cardiology (ESC) and The North American Society of Pacing and Electrophysiology” como guía de consenso sobre la medida, fisiología e interpretación clínica de la variabilidad de la frecuencia cardíaca (75). Posteriormente en 2005 y en esta misma línea, la ADA, consciente de que la

historia clínica y la exploración física del paciente son insuficientes para la detección precoz de la NAC, insiste en la importancia de la realización de test específicos para su evaluación mediante cuantificación de la pérdida de variabilidad de la frecuencia cardíaca (76). La presencia de un único test anormal, excluyendo el test basal, es un indicador de signos precoces de NAC o NAC límite, y en caso de objetivarse dos o más test con resultados anormales, se puede establecer el diagnóstico de NAC (58, 61).

La trascendencia de la medida de la VFC en la patología cardiovascular ya era conocida desde finales de los 80, cuando se identificó que la alteración de dicha variabilidad era un factor predictor independiente de mortalidad tras un infarto agudo de miocardio (77).

En la actualidad disponemos además de herramientas con las que la VFC puede analizarse de forma no invasiva, rápida, reproducible y con una buena sensibilidad (75, 78).

A continuación se detallan algunas de las pruebas autonómicas (79) (tabla 2) de mayor utilidad para el diagnóstico de la disfunción del sistema nervioso autónomo cardiovascular.

<b>Pruebas autonómicas cardiovasculares</b>	
<b>Fisiológicas</b>	Estrés ortostático (Mesa basculante) Ortostatismo activo (Índice 30:15) Estímulo presor (Ejercicio isométrico, frío en mano o cara y estrés mental) Respiración profunda controlada Maniobra de Valsalva Masaje del seno carotídeo Variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo Sensibilidad barorrefleja Microneurografía de nervio peroneo Inervación autonómica cardíaca
<b>Bioquímicas</b>	Noradrenalina plasmática (en reposo y durante el estrés ortostático) Catecolaminas en orina Actividad de renina y aldosterona plasmáticas
<b>Farmacológicas</b>	Noradrenalina (Respuesta vascular) Isoproterenol (Sensibilidad beta-adrenérgica) Tiramina (Repuesta presora y de noradrenalina) Edrofonio (Respuesta de noradrenalina) Atropina (Bloqueo parasimpático cardíaco)

*Tabla 2. Tests de función autonómica cardiovascular. Adaptado de "Evaluación del sistema nervioso autónomo". Morillo CA, et al. 2005.*

### **1.2.5.1. Análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca**

El análisis de la variabilidad de la frecuencia cardíaca se considera como el indicador más temprano y el hallazgo más frecuentemente encontrado en disfunción autonómica cardiovascular sintomática, por lo que se podría considerar la técnica de elección para caracterizar la función del sistema nervioso autónomo (78, 80).

La VFC se define como la variación de la frecuencia del latido cardíaco durante un intervalo de tiempo (menor de 24 horas) en un análisis de ciclos circadianos

Evaluación de la disfunción autonómica en un escenario cardiometabólico y su interacción con la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo



consecutivos. El estudio de VFC se basa en la medida del intervalo RR, que hace referencia a la longitud entre dos ondas R sucesivas (primera onda positiva del conjunto de ondas que representan la despolarización ventricular) de un registro continuo electrocardiográfico y que depende de la frecuencia cardíaca.

Dicho estudio, como indicador de la integridad de la función autonómica, se realiza de forma no invasiva, es un método ampliamente extendido y tiene un bajo coste. Un descenso de VFC es un buen marcador de disfunción autonómica y refleja tanto la disminución de la regulación parasimpática como la hiperactividad simpática.

Para la medición de la VFC pueden utilizarse distintos métodos: medidas en el dominio del tiempo, medidas en el dominio de la frecuencia, medidas no lineales y medidas de turbulencia de la frecuencia cardíaca (81-87). En la práctica clínica habitual se utilizan dispositivos para análisis de VFC en el dominio del tiempo y de la frecuencia (88).

La VFC como indicador de NAC puede evaluarse en situación basal con un patrón de respiración normal, o bien estudiar la respuesta inducida tras estímulo bien con un patrón de respiración profunda o tras realización de maniobras de Valsalva o bipedestación (ver metodología, págs. 41, 42).

En cuanto al tipo de análisis en función del período de tiempo estudiado, en el caso de la VFC en respiración normal y profunda, hablamos de “análisis a corto plazo” (establecido un período de 5 minutos) o “análisis a largo plazo” (establecido un período de 24 horas), de acuerdo a las recomendaciones de “The Task Force of the European Society of Cardiology and The North American Society of Pacing and Electrophysiology”, que se mantienen en protocolos actuales como los establecidos en las Guías de Práctica Clínica de la Sociedad Española de Cardiología de 2000.

#### **a) Test en situación basal: VFC en reposo**

El estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en situación basal o de reposo, es decir, sin ningún procedimiento de intervención o estimulación, se realiza mediante las

medidas en el dominio del tiempo y de la frecuencia, cuyas principales variables se describen en el siguiente apartado.

**a1.) Patrón de respiración normal: medidas en el dominio del tiempo y de la frecuencia.**

En primer lugar se procede a detallar las medidas en el dominio del tiempo, los parámetros de principal interés, su descripción, unidades de medida e interpretación respecto de la evaluación de la disfunción del sistema nervioso autónomo.

- Medidas en el dominio del tiempo

Los métodos utilizados en el dominio del tiempo se caracterizan por estar basados en la cuantificación de las variaciones de la duración de los ciclos o frecuencia cardíaca durante intervalos de tiempo seleccionados. De esta manera, se establecen los intervalos entre latidos sucesivos normales o la frecuencia cardíaca instantánea en un momento del tiempo. Para ello se realiza un registro electrocardiográfico continuo donde se detecta cada complejo y se determinan los intervalos RR (todos los intervalos entre complejos QRS adyacentes). Los intervalos RR normales se analizan estadística y matemáticamente para obtener distintos parámetros que se detallan en la siguiente tabla.

<b>Variables en el dominio del tiempo</b>	<b>Unidades</b>	<b>Interpretación</b>
<b>Medidas estadísticas</b>		
RRSD (SDNN)	ms	Desviación estándar de todos los intervalos RR del período medido
RRSDA (SDANN)	ms	Desviación estándar de la media de los intervalos RR medidos cada 5 minutos durante todo el registro

RMSSD o índice vagal	ms	Raíz cuadrada de la media de la suma de las diferencias entre intervalos RR sucesivos elevados al cuadrado.
Índice RRSD (SDNN index)	ms	Media de las desviaciones estándar de todos los intervalos RR en todos los segmentos de 5 minutos durante el registro
SDSD	ms	Desviación estándar de las diferencias entre latidos adyacentes RR normales
NN50 cont		Número de pares de intervalos RR adyacentes con diferencias inferiores a 50 ms en un registro entero. Son posibles tres variantes contando todos los intervalos RR en parejas o sólo los pares en los cuales el primer o segundo intervalo es más largo
pNN50	%	NN50 dividido por el número total de intervalos RR
<b>Medidas geométricas</b>		
Índice triangular de VFC		Número total de intervalos RR dividido por la altura del histograma de todos los intervalos RR

*Tabla 3. Parámetros para las medidas de la variabilidad RR en el dominio del tiempo (siglas en español y en literatura anglosajona). Adaptado de "Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en la monitorización ambulatoria del electrocardiograma y presión arterial". Plama Gámiz et al, 2000 (89).*

Los parámetros más utilizados por ser sencillos de calcular y aportar mayor información respecto de la función autonómica son:

- RRSD: como indicador independiente de las frecuencias para definir el concepto de la variabilidad total. Aunque es importante tener en cuenta el valor de la FC para evitar evaluaciones erróneas de esta variabilidad (si es limitada o no).

- RMSSD o Índice vagal: que informa de las variaciones a corto plazo de los intervalos RR y se utiliza para observar la influencia del Sistema Nervioso Parasimpático (SNP) sobre el sistema cardiovascular debido a que la VFC disminuye cuando disminuye la actividad vagal. Se asocia directamente a la variabilidad a corto plazo.

- Medidas en el dominio de la frecuencia

Las medidas en el dominio de la frecuencia determinan cuántos ciclos de un proceso suceden en un período de tiempo determinado. Para ello se utiliza la unidad herzio (Hz): 1 ciclo por segundo.

Existen varios métodos por los que se descompone la serie temporal determinada por los ciclos cardíacos consecutivos, cuantificando la magnitud de cada una de las frecuencias constituyentes. Los componentes quedan agrupados en una banda o espectro y a través de algoritmos matemáticos se obtiene el análisis espectral.

A continuación se detallan algunos de los parámetros más relevantes.

<b>Variables en el dominio de la frecuencia</b>	<b>Unidades</b>	<b>Interpretación</b>
Potencia total en el período corto de 5 minutos (TP)	ms <sup>2</sup>	Varianza de todos los componentes de los intervalos RR inferiores a 0,4 Hz en un período de 5 minutos. Este parámetro se considera el espectro general
Potencia en la banda de muy baja frecuencia (VLF)	ms <sup>2</sup>	Rango de frecuencias entre 0,003 y 0,04 Hz
Potencia en la banda de baja frecuencia (LF)	ms <sup>2</sup>	Rango de frecuencias entre 0,04 y 0,15 Hz
Potencia en la banda de alta frecuencia (HF)	ms <sup>2</sup>	Rango de frecuencias entre 0,15 y 0,4 Hz
Potencia en la banda de baja frecuencia normalizada	n.u. ó %	Valor relativo de cada uno de los componentes de baja frecuencia en proporción al valor total del componente VLF
Potencia en la banda de alta frecuencia normalizada	n.u. ó %	Valor relativo de cada uno de los componentes de alta frecuencia en proporción al valor total del componente VLF
Ratio baja frecuencia / alta frecuencia (Ratio LF / HF)		Proporción entre las bajas frecuencias y las altas del resultado del análisis espectral de la VFC
Potencia en la banda de ultra baja frecuencia (ULF)	ms <sup>2</sup>	Rango de frecuencias inferiores a 0,003 Hz. Son mas visibles en períodos largos de medida (24 horas) y se han asociado de manera muy significativa con el parámetro RRSDA de la variable de tiempo.

*Tabla 4. Parámetros para las medidas de la variabilidad RR en el dominio de la frecuencia (siglas en literatura anglosajona). Adaptado de "Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en la monitorización ambulatoria del electrocardiograma y y presión arterial". Plama Gámiz et al, 2000 (89).*

Se ha comprobado que existe una correlación entre los distintos componentes espectrales y los diferentes componentes del SNA (88):

- LF: Es la zona más compleja en su interpretación en los registros para el análisis a corto plazo ya que puede atribuirse a influencias del SNS y/o a las del SNP. Según diferentes estudios, el análisis de los registros a largo plazo proporciona más información sobre la actividad del SNS. Las influencias del SNP se dan cuando existe una frecuencia respiratoria baja (inferior a 7 ciclos/min).
- HF: Está claramente relacionada con la actividad del SNP y tiene un efecto relacionado con la relajación sobre la FC. Las modificaciones de la frecuencia respiratoria también tienen gran influencia sobre el pico de HF.
- Ratio LF/HF: permite estimar la influencia vagal (relacionada con la relajación y la HF) y la simpática (relacionada con el estrés y la LF). Nos ofrece información acerca del equilibrio simpático-vagal. Debido a dificultad de interpretación de las LF de forma aislada, se puede utilizar la proporción LF/HF para estimar de manera más efectiva la actividad del SNS.

## **b) Test dinámicos: VFC tras estímulo**

Los test dinámicos hacen referencia a la medida de la VFC tras un estímulo inducido. A continuación procedemos a describir tres de los principales: la medida de VFC con un patrón de respiración profunda, la maniobra de Valsalva y la maniobra de bipedestación.

### **b1.) Patrón de respiración profunda: medidas en el dominio del tiempo**

El estudio de la VFC en el test dinámico de patrón de respiración profunda, se realiza con los mismos parámetros de estudio utilizados en el dominio del tiempo para el patrón de respiración normal (ver pág. 15). Se evalúa la respuesta autonómica mediante el estímulo de un patrón de respiración profunda definido, tal y como se explica detalladamente en el apartado de metodología (ver pág. 43).

## **b2.) Maniobra de Valsalva**

El test dinámico de maniobra de Valsalva evalúa la función autonómica a través de los cambios de la frecuencia cardíaca o intervalos RR secundarios a un aumento de presión. Para ello el paciente debe colocarse en decúbito dorsal y mantener durante 15 segundos una presión espiratoria constante de 40 mmHg, lo que genera un incremento súbito transitorio en la presión intraabdominal e intratorácica. La respuesta refleja a la maniobra incluye taquicardia y vasoconstricción periférica durante la misma, seguida de aumento de presión y bradicardia. La respuesta está modulada por la activación alterna de parasimpático y simpático. En pacientes con NAC la prueba deja patente una respuesta cardíaca amputada de afectación predominante del componente simpático. La respuesta hemodinámica generada se estudia a través del ratio Valsalva calculado mediante el cociente entre el intervalo RR más largo (reflejo de bradicardia con el incremento de la presión arterial) y del intervalo RR más corto después de la maniobra de Valsalva (reflejo de la taquicardia como resultado del esfuerzo) (90).

## **b3.) Maniobra de bipedestación**

El test de maniobra de bipedestación para el estudio de la VFC tras estímulo se basa en la respuesta de incremento de la frecuencia cardíaca al cambiar de una posición de decúbito a bipedestación en un corto período de tiempo (3 segundos) en el sujeto sano. Esta taquicardización se calcula como máxima aproximadamente en el latido 15 tras la bipedestación y se sigue de una bradicardia de relajación, que es máxima aproximadamente en el latido 30 tras la bipedestación. El estudio de la VFC se realiza a través del llamado ratio 30:15, calculado como el cociente entre intervalo RR más largo que coincide con el latido 30 y el más corto que coincide con el latido 15 (91).

## **1.3. RIGIDEZ ARTERIAL**

La llamada “rigidez arterial” no es sino la “inflexibilidad” de las arterias a adaptarse al continente, una pérdida en definitiva de su “capacitancia” y tiene como sustrato la “arteriosclerosis”. Aterosclerosis y arteriosclerosis son procesos diferentes que

comparten factores de riesgo, y dentro de ellos el factor edad, el más importante en ambas, explica que puedan coexistir. Mientras que la aterosclerosis, hoy llamada enfermedad aterotrombótica, es un trastorno focalizado en regiones arteriales muy concretas, la arteriosclerosis es un proceso difuso y es el sustrato estructural de la rigidez arterial. Cuando la enfermedad aterotrombótica se acompaña de una mayor rigidez arterial, aumenta la mortalidad (92). De todos los factores determinantes de la rigidez arterial la edad (93) es sin duda el más importante seguido de la presión arterial (94).

En contra de lo que se pensaba, el incremento de la rigidez arterial no sólo es el resultado de una serie de cambios estructurales sino también funcionales (95, 96), como consecuencia de la disfunción endotelial inherente al vaso envejecido, un proceso denominado “senescencia endotelial” y del que hablaremos más adelante. Este componente funcional es potencialmente reversible y ello explica las mejoras observadas en sujetos hipertensos cuando son sometidos a determinadas formas de terapia que además de reducir la tensión arterial ejercen acciones beneficiosas sobre el endotelio (97).

Al igual que la disfunción autonómica, la rigidez arterial es un proceso edad-dependiente de forma que ambos procesos pueden coincidir con el devenir de los años. Si hay una interacción entre ellos y a su vez con la disfunción endotelial y el estrés oxidativo es un hecho que la investigación presente y futura debe demostrar.

La rigidez arterial puede ser medida mediante técnicas no invasivas como el análisis y la velocidad de la onda de pulso aórtica, como detallaremos más adelante. Uno de sus parámetros derivados es el índice de aumento de la presión arterial central, de destacada importancia por ser un importante marcador independiente de riesgo de arteriopatía coronaria (98). Por su parte la velocidad de la onda de pulso aórtica se ha descrito como factor predisponente independiente de morbimortalidad en pacientes hipertensos y diabéticos (99). La rigidez arterial y el comportamiento hemodinámico central han sido evaluados en múltiples estudios como valores pronósticos de



enfermedad cardiovascular, independientes de los factores de riesgo tradicionales (98-103).

### **1.3.1. Análisis de onda de pulso (PWA)**

El análisis de onda de pulso es una medida indirecta de rigidez arterial que proporciona la tensión arterial central así como los parámetros principales de la función cardíaca. El análisis de la forma de onda calibrada de la tensión arterial en la aorta ascendente se deriva a partir de la forma de la tensión periférica, tomada en la arteria radial (ver metodología, pág. 43 y anexo I). Permite el cálculo del índice de aumento (IAx), que refleja el aumento de presión arterial aórtica debido al incremento de resistencia vascular periférica y/o aumento de la velocidad de la onda por rigidez arterial, lo que conlleva un incremento de la carga de presión sobre el ventrículo izquierdo que se asocia a incremento de riesgo cardiovascular, masa ventricular izquierda, disfunción diastólica y riesgo de eventos cardiovasculares tras angioplastia. IAx es un importante marcador de riesgo independiente de arteriopatía coronaria tal y como se documenta en el estudio de Weber, publicado en *Circulation* en 2004 (98).

### **1.3.2. Velocidad de onda de pulso (PWV)**

La medida de la velocidad de onda de pulso se considera en la actualidad la técnica *gold standard* para la medición directa de la rigidez arterial de las grandes arterias de forma no invasiva. En 2007 la Sociedad Europea de Hipertensión incorpora este parámetro en sus guías para el manejo de la hipertensión arterial y queda establecido su papel como un importante elemento diagnóstico, así como su implicación en cuanto a la estratificación de riesgo. Además se relaciona con un incremento de la morbimortalidad tanto en sujetos sanos como en pacientes con enfermedad cardiovascular establecida, ya que a medida que la rigidez aumenta también lo hace la velocidad de la onda de pulso. Se mide mediante tonometría de aplanamiento en combinación con el electrocardiograma de 3 derivaciones, entre la arteria carótida y la radial o femoral (ver metodología, pág. 44 y anexo II). Valores altos se correlacionan con ictus en pacientes hipertensos y con la extensión de la placa de ateroma en las coronarias. PWV se establece también como factor predisponente independiente de

morbimortalidad en pacientes hipertensos y diabéticos en el estudio de Cruickshank publicado en *Circulation* en 2002 (99).

#### **1.4. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL**

La disfunción endotelial se caracteriza por un aumento de la reactividad endotelial a las sustancias vasoconstrictoras y un desequilibrio entre sustancias prooxidantes y antioxidantes. Todo ello, conduce a un mayor estrés oxidativo con la consiguiente disfunción endotelial. Los fenómenos de estrés oxidativo y disfunción endotelial están estrechamente relacionados entre sí, se potencian entre ellos y ambos mantienen además una interrelación con la inflamación constituyendo la conocida “hipótesis triangular”, en la que disfunción endotelial, estrés oxidativo e inflamación se encuentran directamente interrelacionados de forma bidireccional como vértices de un triángulo (45). El estrés oxidativo es además un hallazgo común y precoz de las enfermedades cardiovasculares y, tal y como queda descrito en distintas publicaciones, su incremento se relaciona con un deterioro de la vasodilatación dependiente de endotelio (104) como primer paso en el camino hacia la enfermedad cardiovascular.

Como se ha citado en el apartado anterior, se ha observado que, de manera fisiológica, existe un deterioro progresivo de la función endotelial con el envejecimiento, un proceso conocido como “senescencia endotelial”. Tokunaga et al (105) en 1998 comunicaron por primera vez que en el anciano un gran porcentaje de células son “senescentes” y en muchos casos “apoptóticas”, en contra del pensamiento generalizado hasta esa fecha de que el envejecimiento no modificaba de forma sustancial la morfología de la célula. Más de una década después, en 2011, Neal S. Fedarko (106) constató la presencia en ancianos de una proporción importante de células endoteliales senescentes, caracterizadas por ser gigantes, multinucleadas y secretoras, con un fenotipo distinto conocido como SASP (senescent-associated secretory phenotype) y otras atróficas (apoptóticas). La senescencia endotelial se acompaña con frecuencia de alteraciones de la célula muscular lisa, que se vuelve proliferativa y secretora, y de cambios en la matriz extracelular como el aumento de

fibroblastos y colágeno, se favorece la formación de ROS, y existe una tendencia a la fragmentación y calcificación que supone un aumento de rigidez del lecho vascular y alteración en muchas de sus funciones.

Aunque la función endotelial puede abordarse de una forma más fiable mediante técnicas hemodinámicas no invasivas a nivel de la micro o macrocirculación ambas basadas en la liberación de NO (óxido nítrico) en respuesta a la isquemia y el hiperaflujo consiguiente, la medición por medio de biomarcadores tendría como ventajas el factor tiempo y la no dependencia de aparatología no accesible en la rutina clínica. En relación con los biomarcadores siempre se puede remitir la muestra a analizar a un laboratorio de referencia cuando no se dispone de la técnica. Aunque existen más marcadores vamos a comentar brevemente los utilizados en el presente trabajo.

#### **1.4.1. Dimetil arginina asimétrica (ADMA)**

El ADMA es un marcador específico de daño endotelial. Se ha demostrado como un inhibidor competitivo endógeno de la enzima óxido nítrico sintetasa. La elevación de sus niveles en plasma se ha asociado a disfunción endotelial debido a su efecto deletéreo sobre la dilatación dependiente de endotelio. Se han objetivado niveles elevados de ADMA en pacientes con hipercolesterolemia, aterosclerosis, hipertensión, insuficiencia renal crónica e insuficiencia cardíaca. Distintos estudios prospectivos y transversales hacen referencia a la presencia de niveles elevados de ADMA como un marcador de riesgo cardiovascular, debido al conocimiento cada vez mayor de su implicación en la patogénesis de la enfermedad cardiovascular (107-111).

#### **1.4.2. Inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1)**

El inhibidor del activador del plasminógeno o PAI-1, es producido en circunstancias normales por el hepatocito y en pequeñas cantidades por el endotelio y el tejido graso, pero en un escenario cardiometabólico la síntesis a nivel endotelial aumenta y si coexiste obesidad abdominal, nada infrecuente, aún más. A pesar de sus limitaciones, su medida en plasma se utiliza de forma fiable como indicador de la función endotelial.

Es el principal inhibidor del plasminógeno activo de tejido, de tal manera que un incremento de sus niveles en plasma se asocia con el daño de la función fibrinolítica. PAI-1 favorece la fibrogénesis y existen distintos estudios que indican que esta alteración inducida de la fibrinólisis se relaciona con disfunción endotelial, síndrome metabólico y aparición de enfermedad cardiovascular (112-114).

## **1.5. INTERACCIÓN DE LA INFLAMACIÓN Y META-INFLAMACIÓN CON LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL**

### **1.5.1. Generalidades**

Que la inflamación, disfunción y estrés oxidativo componen una triada fisiopatológica es incuestionable (45) siendo la Proteína C reactiva (PCR) (115), la proteína amiloide A sérica (SAA, acrónimo de *Serum amyloid A*) (116) y las fosfolipasas LPLA-2 y sPLA-2 los marcadores inflamatorios por excelencia en las dos últimas décadas, especialmente el primero de ellos, que a pesar de su inespecificidad, salió reforzado a raíz de la publicación del estudio JUPITER en 2008 (117). Por otro lado en la moderna Medicina Cardiometabólica está de gran actualidad el concepto de “metainflamación” por amplificar ésta la inflamación asociada a la disfunción endotelial. Aunque existen más, dos son los focos metainflamatorios de mayor interés para el internista, endocrinólogo, cardiólogo o nefrólogo interesado en el riesgo cardiometabólico y estos son la grasa abdominal y los productos liberados por las bacterias intestinales. Nosotros vamos a abordar solo la grasa abdominal por utilizarse biomarcadores relacionados con ella en la metodología del presente trabajo.

### **1.5.2. Proteína C reactiva (PCR)**

La proteína C reactiva o PCR, es una proteína de fase aguda, altamente sensible como marcador de inflamación general. Dicha proteína se produce por el hepatocito y el monocito activado. Su mecanismo de acción inflamatorio se basa en la estimulación de la producción de otras células inflamatorias y en la activación del complemento, promoviendo la opsonización y fagocitosis de distintos ligandos e induciendo la respuesta inflamatoria. Participa de forma activa en la inflamación de la pared vascular

y en la inestabilidad de la placa. De este modo, la PCR interviene en el proceso aterogénico. A su vez, tiene un valor predictivo para síndrome metabólico y la aparición de diabetes mellitus (118).

En 2004, Libby y Ridker publicaron los puntos de corte de referencia, estableciendo como valor normal por debajo de 1 mg/L, limítrofe entre 1 y 3 mg/L y elevado >3 mg/L (119). Estos puntos de corte fueron modificados en el estudio JUPITER de 2008 donde se considero elevado un valor mayor o igual a 2 (117). La detección de niveles superiores a 10 mg/L obliga a descartar infección o conectivopatía.

En cuanto a la técnica de medida, la tecnica convencional no detectaba los valores más bajos y se necesitaban herramientas mas finas, de forma que se introdujeron ELISAs de mayor precisión que permitieran detectar esos puntos bajos ya que el nivel óptimo, tanto por los puntos de corte de 2004 como los de 2008, es <1. Cuando la detección de los niveles de PCR se realiza con estas técnicas de alta sensibilidad hablamos de proteína C reactiva de alta sensibilidad o ultrasensible (PCR-us). Su valor predictivo para individuos menores de 65 años no presenta diferencias de género, entre los 65 y los 80 años solo es útil en varones, y por encima de esa edad pierde su valor predictivo (120-122).

### **1.5.3. Adipoquinas**

Las adipoquinas son un grupo de péptidos bioactivos de bajo peso molecular secretados fundamentalmente por el tejido adiposo subcutáneo y visceral, con diversas acciones a nivel local y a distancia, participando en el mantenimiento de la homeostasis energética, vascular (endotelial), del metabolismo de los lípidos y los hidratos de carbono y de la regulación de la presión arterial. Distintas publicaciones avalan el papel de estas sustancias en el desarrollo de la inflamación, la insulinresistencia y la disfunción endotelial, procesos relacionados con la aterosclerosis. Los mecanismos implicados en la disfunción endotelial asociado a las adipoquinas comprenden la estimulación de la expresión de moléculas de adhesión en las células del endotelio vascular, el aumento de formación de radicales libres de

oxígeno a partir del NO, disminuyendo así la disponibilidad del NO y favoreciendo el daño sobre el tejido vascular y la angiogénesis (45, 123, 124).

De las diferentes adipoquinas conocidas seleccionamos a continuación las siguientes por disponerse en la literatura de datos de una mayor experiencia en la investigación cardiovascular.

#### **1.5.3.1. Adiponectina**

La adiponectina es una adipoquina secretada por los adipocitos que interviene en la regulación del metabolismo energético del organismo, estimulando la oxidación de ácidos grasos, reduciendo los niveles de triglicéridos plasmáticos y aumentando la sensibilidad a la insulina como mejora del metabolismo glucídico. En condiciones normales se encuentra en concentraciones de 5 a 30  $\mu\text{g/ml}$  plasmáticos, lo que constituye aproximadamente el 0,01% del total de las proteínas plasmáticas humanas (125-127).

En cuanto a su relación con el proceso aterosclerótico se ha observado que inhibe los estadios iniciales del mismo. Su efecto antiaterogénico se debe a que reduce la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y del factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), así como la transformación de macrófagos en células espumosas. La adiponectina también suprime la proliferación y la migración de células musculares lisas a la pared arterial, así como la proliferación y la capacidad fagocítica de los monocitos, células clave en la progresión y la formación de la lesión vascular. La presencia de niveles reducidos de adiponectina en plasma se asocia con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares (128-130).

#### **1.5.3.2. Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )**

El factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) es una hormona polipeptídica producida por monocitos/macrófagos activados, que interviene en los mecanismos de defensa del huésped contra el crecimiento de las células neoplásicas (de ahí su nombre). La grasa abdominal se ha revelado en la última década como una fuente de liberación de dicha

citoquina, no directamente secretada por el adipocito sino por la llamada “fracción vascular estromal de tejido adiposo”, rico en macrófagos en su composición (131, 132). Su participación en la resistencia insulínica que acompaña el síndrome metabólico y la diabetes tipo 2 es incuestionable. Tiene además un perfil proinflamatorio y favorece la producción de NO, prooxidante en niveles elevados, mediante estimulación de la expresión de la forma inducible de la enzima óxido nítrico sintetasa (NOS).

TNF- $\alpha$  promueve una gran variedad de respuestas celulares a través de la unión a dos receptores diferentes: rTNF- $\alpha$  1 y rTNF- $\alpha$  2 (133). Tras la unión a estos receptores y mediante un proceso proteolítico, la parte extracelular da lugar a las formas solubles denominadas rsTNF- $\alpha$  1 y rsTNF- $\alpha$  2 (134). El desprendimiento de rTNF1 da lugar a un aumento de rsTNF1, que antagoniza el TNF- $\alpha$  (135). Se ha observado un efecto antagónico respecto del proceso aterosclerótico de los receptores de TNF- $\alpha$  según se realice la unión a uno u otro tipo de receptor (136). La unión a rsTNF- $\alpha$  1 parece inducir mecanismos antiateroscleróticos al reducir la actividad de TNF- $\alpha$ , favorecer la vasodilatación dependiente de endotelio, la estimulación del crecimiento de células endoteliales y proteger el miocardio frente al infarto tras la isquemia y reperfusión (137-139). Por el contrario, la unión a rsTNF- $\alpha$  2 parece tener un efecto proaterosclerótico, una correlación negativa con la vasodilatación dependiente de endotelio, y una asociación con la resistencia a la insulina, la hipertensión y la enfermedad coronaria (140-143).

A efectos prácticos, principalmente por razones de coste y reproducibilidad, es mucho más útil medir los receptores que la propia citoquina. Además de lo anterior, existe la posibilidad de que estén sobreexpresados en caso de patología incluso cuando la citoquina está en niveles normales (144).

### **1.5.3.3. Resistina**

La resistina es una proteína secretada por los adipocitos que desempeña un importante papel en el metabolismo energético, el peso corporal y la ingesta de alimentos. Su principal función se relaciona con la regulación de la insulina, la glucosa y el desarrollo de diabetes mellitus tipo 2.

Esta molécula está relacionada con el proceso de aterosclerosis debido a su efecto proinflamatorio a nivel del endotelio vascular. Se ha observado que tiene un efecto perjudicial sobre el metabolismo de la glucosa, favorece la insulinresistencia, la formación de células espumosas, la proliferación y migración de células endoteliales y de músculo liso vascular (145-148).

Teniendo en cuenta las implicaciones de la NAC en la enfermedad aterotrombótica, existe un gran interés en aclarar el vínculo entre la presencia de estrés oxidativo y de disfunción autonómica, independientemente del estatus diabético del sujeto. A pesar de que hasta la fecha no se ha esclarecido la relación entre estrés oxidativo y disfunción autonómica, distintos estudios, tanto a nivel experimental como en humanos, han aportado evidencias en este sentido (149-162).

## **1.6. ESTRÉS OXIDATIVO**

### **1.6.1. Generalidades**

Dada la relación entre disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo por un lado y que el presente proyecto va a plantearse en torno a la interacción entre el estrés oxidativo y la disfunción autonómica, entre otras posibles interacciones, es necesario profundizar en dicho fenómeno. El mismo hace referencia al estado en el que el ambiente prooxidante al que está sometido la célula supera a sus mecanismos defensivos antioxidantes. Los elementos prooxidantes en los sistemas biológicos, proceden en su mayoría del oxígeno ( $O_2$ ), por lo que reciben el nombre genérico de “especies reactivas de oxígeno”, conocido en la literatura anglosajona con las siglas ROS (*reactive oxygen species*). Dentro de este grupo se encuentran radicales como el hidroxilo (OH), superóxido ( $O_2^-$ ), tiol (RS), peroxilo (RO2) y peroxilo lipídico (LOO) y otras sustancias no radicales como el ácido hipocloroso (HOCl), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el ozono ( $O_3$ ), el oxígeno monoatómico (O) o el peróxido lipídico (LOOH). La producción de ROS se realiza de forma continua en las células de nuestro organismo como consecuencia del consumo de oxígeno, sustancia indispensable para el correcto funcionamiento de las funciones vitales. Por otra parte, a nivel intracelular encontramos sustancias antioxidantes como la cisteína (CYS) o el glutatión (GEH), y



distintas enzimas con capacidad antioxidante como la superóxido dismutasa (SOD), glutathion peroxidasa (GPx) glutathion reductasa y catalasa (CAT) que contribuyen al mantenimiento del equilibrio óxido-reductor (REDOX) (163).

La toxicidad de las ROS puede ser muy elevada y poner en marcha una cascada de reacciones que lleguen incluso a comprometer la vida de la célula. El estrés oxidativo está implicado en la patogénesis de diversos procesos, incluyendo enfermedades cardiovasculares (164,165). Un exceso de radicales libres suele iniciar el daño en la pared vascular agrediendo al endotelio (capa celular de revestimiento del corazón y vasos sanguíneos), perturbando su funcionalidad (situación conocida como “disfunción endotelial”) y activando rutas proinflamatorias que perpetúen el proceso aterosclerótico (166-168). A su vez, una disfunción endotelial aparecida en el seno de una hipertensión, diabetes, hipercolesterolemia o tabaquismo, se va a acompañar tarde o temprano de estrés oxidativo por la reducción de los niveles de NO, nuestro principal antioxidante a nivel vascular.

### **1.6.2. Especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS)**

Entre los biomarcadores de estrés oxidativo (169) las especies reactivas al ácido tiobarbitúrico (TBARS) están entre los más utilizados. Estas sustancias incluyen hidroperóxidos lipídicos y aldehídos (malondialdehído) (MDA) cuyos niveles plasmáticos se ven aumentados en respuesta a una situación de estrés oxidativo. Es la consecuencia del ataque de las ROS sobre los ácidos grasos poliinsaturados en un proceso denominado peroxidación lipídica, que deriva finalmente en la destrucción celular. De este modo, los niveles de TBARS se utilizan como marcadores de estrés oxidativo (170).

## **1.7. RELACIÓN ENTRE DISFUNCIÓN AUTONÓMICA CARDÍACA Y ESTRÉS OXIDATIVO**

Existen distintas publicaciones que versan sobre la relación entre la NAC y el estrés oxidativo. Se procede a detallar las más relevantes, tanto a nivel experimental como en ensayos clínicos en humanos.

### 1.7.1. Estudios en modelos experimentales

Varios estudios llevados a cabo en modelos experimentales han analizado la relación existente entre disfunción autonómica y estrés oxidativo. Conti et al. (149), en 2014, evaluaron el efecto de la sobrecarga de fructosa sobre la modulación autonómica cardíaca, la inflamación y el estrés oxidativo en un modelo experimental de hipertensión y menopausia. Para ello se dividió a un grupo de ratas hembras según fueran hipertensas o hipertensas ovariectomizadas. Tras la sobrecarga se observó que la presión arterial era más elevada en el grupo de hipertensión ovariectomizado, acompañada de una reducción de la VFC y un aumento de la actividad simpática, presentando además niveles más elevados de TBARS, TNF- $\alpha$  y mayor lipoperoxidación a nivel de la membrana de tejido cardíaco, así como niveles más reducidos de glutathion. Estos hallazgos, apuntan a la existencia de una asociación entre estrés oxidativo (medido entre otros parámetros por TNF- $\alpha$  y TBARS) y disfunción autonómica cardíaca, medida por análisis espectral en el dominio del tiempo y frecuencia, tras la citada sobrecarga.

Otros estudios (150, 151) publicados anteriormente han mostrado resultados similares al ya mencionado. De Angelis K et al. (150) evaluaron en ratones macho las alteraciones metabólicas, autonómicas y cardiovasculares inducidas a medio plazo (a las 2 y a las 8 semanas) por una sobrecarga de fructosa. Los resultados mostraron que un aumento de la modulación simpática de los vasos y el corazón preceden a la disfunción metabólica en los ratones que habían consumido fructosa, sugiriendo que los cambios en la modulación autonómica pueden ser un mecanismo subyacente en el inicio del conjunto de síntomas asociados con la enfermedad cardiometabólica. Por su parte, Brito et al. (151), observaron que un grupo de ratas alimentadas con fructosa durante 8 semanas presentaban una reducción significativa en la modulación autonómica parasimpática, evaluada mediante bloqueo farmacológico, respecto al grupo control. Del mismo modo se objetivó una menor tasa de aclaramiento metabólico de glucosa durante el test de tolerancia a la insulina. Estos resultados parecen indicar la existencia de un papel de la disfunción autonómica parasimpática

asociado con la resistencia a la insulina en el desarrollo de las alteraciones metabólicas y cardiovasculares tempranas inducidas por una dieta alta en fructosa.

Otro estudio en el que también está implicado el metabolismo hidrocarbonado junto al binomio estrés oxidativo-disfunción autonómica es el realizado por Malfitano et al. en 2014 (152), donde se estudiaba una población de ratas diabéticas tras un infarto agudo de miocardio (IAM). Al contrario que en los trabajos anteriores, se trataba de investigar acerca del probable efecto beneficioso de la hiperglucemia tras un IAM sobre la modulación autonómica cardiovascular y el perfil de estrés oxidativo. Se establecieron cuatro grupos: control, diabéticas, con IAM y diabéticas con IAM, y se objetivó que el grupo de diabéticas infartadas mostraba un descenso en la VCF y la modulación autonómica vagal, aunque la modulación simpática descendió sólo en el grupo de diabetes. Por su parte, los niveles de anión superóxido y la carbonilación de proteínas fueron mayores en el grupo con IAM, mientras que el balance redox fue menor. Los datos sugieren cierto mecanismo protector de la hiperglucemia contra la isquemia tras un IAM, con elevación de antioxidantes, descenso de prooxidantes y de daño proteico, probablemente relacionados con la mejora en la modulación autonómica simpática.

La relación entre el sistema nervioso autónomo y el estrés oxidativo también ha sido analizada en respuesta a la exposición a contaminación ambiental en modelos animales. Rhoden et al. (153) observaron que ratas expuestas a aire con elevado nivel de polución presentaban un aumento del estrés oxidativo (medido por los niveles de TBARS) a nivel cardíaco vía autonómica. Recientemente, Pei et al. (154) evaluaron los mecanismos de daño cardiovascular inducidos por partículas ambientales de pequeño tamaño en ratones susceptibles de patología aterosclerótica, objetivando que dicha exposición provocaba un incremento de estrés oxidativo medido por el malondialdehído y un descenso de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, marcador de disfunción autonómica.

### 1.7.2. Estudios en humanos

Varios estudios clínicos han evaluado también la relación entre estrés oxidativo y disfunción autonómica en humanos. Thiagarajan et al. (155) estudiaron la asociación entre disfunción autonómica, estrés oxidativo, insulínresistencia y respuesta inflamatoria en pacientes con glucemia alterada en ayunas. Se observó que existía una reducción de la modulación cardiovagal con la respiración forzada y el ortostatismo en los pacientes con hiperglucemia. En cuanto a los biomarcadores estudiados, TBARS, proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us) y TNF- $\alpha$ , presentaban niveles elevados en ese mismo grupo. En la misma línea, Takei Y. et al. (156), encontraron que la hiperglucemia inducía modulación autonómica (activación simpática) y disfunción endotelial a nivel coronario.

Además de en presencia de hiperglucemia, se han estudiado otros factores en la relación entre disfunción autonómica y estrés oxidativo. Gosmanov et al., en 2010 (157), sometieron a un grupo de sujetos obesos sin otra patología asociada a una sobrecarga de grasa, observando un aumento del estrés oxidativo (además de la presión arterial y la disfunción endotelial) asociado a un aumento de la frecuencia cardíaca y un descenso de la variabilidad RR, que refleja el perfil hemodinámico deletéreo vía autonómica en sujetos obesos. La exposición a contaminación ambiental, tal y como sucedía en los modelos animales (153, 154), también se ha asociado con estrés oxidativo e inflamación en estudios clínicos de pequeño tamaño (158,159), lo que podría sugerir una exacerbación de los efectos nocivos de estas partículas sobre la función autonómica cardíaca.

En cuanto a grupos de población específicos, la relación entre estrés oxidativo y función autonómica se ha estudiado en el ámbito de la diabetes y de la enfermedad renal crónica avanzada.

Respecto a la población diabética, cabe destacar los trabajos realizados sobre este tema por Ziegler D et al (160,161). En 2015 evaluaron la presencia de biomarcadores de estrés oxidativo en plasma como predictores de progresión de disfunción autonómica cardíaca y mortalidad (160). Para ello se realizó un seguimiento de 89

pacientes diabéticos diagnosticados de polineuropatía durante un período de seis años, midiendo los niveles de anión superóxido, ácido hipocloroso, peroxinitrito, 8-iso-prostaglandina, ratio vitamina E/lípidos y vitamina C, así como la función autonómica cardíaca mediante la VFC. Así, el aumento de la generación de anión superóxido en plasma se asoció con el deterioro de la VFC en reposo y con un mayor riesgo de mortalidad. Previamente (161), el mismo grupo había comunicado una elevación de los marcadores de estrés oxidativo así como un descenso de los marcadores de defensa antioxidante en pacientes diabéticos con disfunción autonómica respecto al grupo de control de sujetos sanos, siendo mayor la elevación de los marcadores de estrés oxidativo en aquellos pacientes que ya presentaban polineuropatía previa.

En población con nefropatía crónica, Fadaee et al. (162) estudiaron 78 pacientes diagnosticados de enfermedad renal crónica estadio 3-4 (tasa de filtración glomerular estimada de 25 a 59 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup>), observando que aquellos con niveles elevados de F2-isoprostanos tenían una VFC reducida en comparación con los pacientes con niveles normales de dicho biomarcador, lo que parece sugerir una asociación significativa e independiente entre estrés oxidativo y disfunción autonómica en pacientes con nefropatía crónica.

### **1.8. EL LUGAR PREEMINENTE DEL FACTOR EDAD EN LA EVALUACIÓN DEL RIESGO CARDIOVASCULAR Y SU POTENCIAL ASOCIACIÓN CON TODOS LOS PROCESOS ANTERIORES**

Tanto los clásicos modelos de riesgo como Framingham (171), Score Project (172), PROCAM (173), y los más nuevos como Archimedes (174-176), Reynolds (177) y la última calculadora de riesgo de la ATP-IV (178) tienen a la edad como el factor más determinante del riesgo cardiovascular, independiente de su influencia sobre la prevalencia de determinados factores de riesgo clásicos (obesidad, hipertensión arterial, hiperglucemia, síndrome metabólico, hipercolesterolemia) y emergentes [lipoproteína (a), homocisteína]. Pero lo más interesante de todo, es que la edad está estrechamente relacionada con tres mecanismos patogénicos de enorme interés en la moderna Medicina Cardiometabólica y que son la rigidez arterial, la disfunción endotelial y la disfunción autonómica. Por todo ello, se analizará detalladamente dicho

factor en nuestro trabajo por si se diera el caso de que la edad y no el estrés oxidativo fuera la única responsable de una potencial asociación entre ellas.

## **2. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO**

---

## **2. PLANTEAMIENTO DEL ESTUDIO**

### **2.1. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

La disfunción o neuropatía autonómica cardíaca es una patología que se asocia con un aumento de la morbimortalidad de causa cardiovascular y de muerte súbita de origen cardíaco.

Se trata además de un trastorno de difícil diagnóstico, debido su sintomatología, poco específica y de gran variabilidad, con formas de presentación en ocasiones subclínicas e insidiosas, asociado a la ausencia de consenso en cuanto a su definición y métodos de evaluación.

A pesar de ello, se ha constatado que la búsqueda activa de la enfermedad incrementa de forma significativa su prevalencia, de gran variabilidad por los problemas citados.

En la génesis de la NAC se postulan tres hipótesis (metabólica, vascular y oxidativa) que podrían no ser independientes sino complementarias.

En la actualidad continúa existiendo un gran desconocimiento acerca de la relación de la NAC con la disfunción endotelial, la rigidez arterial y muy especialmente con el estrés oxidativo, entidades muy prevalentes en un escenario cardiometabólico y en las que el factor edad está estrechamente relacionado.

El único trabajo llevado a cabo en pacientes diagnosticados de diabetes mellitus y en tratamiento con antioxidantes, el conocido estudio Steno-2 (179), es el que mejor resultados obtiene en la NAC. Dicho estrés oxidativo tendría diferentes fuentes de producción: la propia disfunción endotelial con la reducción del factor antioxidante por excelencia, el NO, la autooxidación de la glucosa proteínica y no proteínica, la producción de especies reactivas de oxígeno derivados de la vía del sorbitol, y los ROS generados por un desbalance entre las adipocinas antiinflamatorias (adiponectina) y proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , resistina) (180).



Si nuestra hipótesis de trabajo es cierta: “la presencia, aislada o combinada, de estrés oxidativo, disfunción endotelial y rigidez arterial se asocia con disfunción autonómica” tendría importantes implicaciones terapéuticas ya que bastaría con asociar terapia antioxidante, no solo en pacientes diabéticos, como se hizo en el estudio Steno-2, sino también en otras poblaciones de riesgo cardiovascular equivalente, en la que la prevalencia real de esta alteración es aún más desconocida que en la propia diabetes por no disponerse hasta ahora de aparatos fiables de medida.

Por todas las razones anteriores, se plantea la necesidad de llevar a cabo un estudio que profundice en la relación entre la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo como factores determinantes de la disfunción autonómica, y que permita identificar la presencia de diferencias clínicas, antropométricas, hemodinámicas o metabólicas según la presencia o no de dicho trastorno, en una población con un amplio espectro de riesgo cardiovascular.

## **2.2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS**

### **2.2.1. Hipótesis de trabajo**

En pacientes con un amplio espectro de riesgo cardiovascular, la presencia, aislada o combinada, de estrés oxidativo, disfunción endotelial y rigidez arterial se asocia con disfunción autonómica.

### **2.2.2. Objetivos**

#### **2.2.2.1. Principal**

- Estudiar el papel de la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo como factores determinantes de la disfunción autonómica, evaluada de forma no invasiva mediante la medida de VFC en reposo y tras estímulo, en una población con un amplio espectro de riesgo cardiovascular.

#### **2.2.2.2. Secundarios**

- Caracterizar la VFC según los test de reposo y tras estímulo en la población de estudio, y evaluar su asociación con las características clínicas, antropométricas, hemodinámicas y metabólicas.
- Evaluar la relación entre la presencia de alteraciones de la función autonómica, en los test de reposo y tras estímulo, y el incremento de la rigidez arterial medido por métodos hemodinámicos no invasivos.
- Evaluar si la reducción de la VFC en los test de reposo y tras estímulo, se asocia a mayor grado de inflamación subclínica y/o disfunción endotelial, evaluadas por biomarcadores.
- Estudiar si la reducción de la VFC, tanto en reposo como en respuesta a estímulo, se asocia a un mayor estrés oxidativo.
- Estudiar el efecto de la edad en la relación entre disfunción autonómica, evaluada por VFC en test de reposo y tras estímulo, y rigidez arterial, así como con los marcadores bioquímicos de estrés oxidativo, inflamación y disfunción endotelial.
- Evaluar cómo la estratificación de la población en base a biomarcadores de estrés oxidativo y disfunción endotelial o inflamación se asocia a la presencia de alteraciones autonómicas, tanto en reposo como en respuesta a estímulo.

# 3. METODOLOGIA

---

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. CARACTERÍSTICAS DEL ESTUDIO**

Se trata de un estudio observacional, retrospectivo, de corte transversal.

#### **3.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO**

La población de estudio fue seleccionada entre los pacientes en seguimiento en la Unidad de Endotelio y Medicina Cardiometabólica del Servicio de Medicina Interna del hospital Universitario Ramón y Cajal durante el período entre enero de 2009 y marzo de 2012. Los pacientes candidatos a ser incluidos en el presente trabajo fueron aquellos que tuvieran realizado un estudio de biomarcadores de disfunción endotelial (ADMA, PAI-1), inflamación (adiponectina, rsTNF- $\alpha$  2, resistina) y estrés oxidativo (TBARS), además de una evaluación de la rigidez arterial y de la disfunción autonómica. Entre ellos, fueron incluidos finalmente en el estudio aquellos que satisficieran los criterios de inclusión y ninguno de los criterios de exclusión que se definen a continuación.

#### **3.3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

- Pacientes con diagnóstico clínico de una patología cardiovascular o factor de riesgo cardiovascular clásico, definido por la presencia de al menos uno de los siguientes: diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 2, síndrome metabólico, historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz de primer grado, hipertensión arterial, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, HDL bajo o enfermedad cardiovascular establecida.

#### **3.4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

- Raza no caucasiana.

- Diagnóstico previo de diabetes mellitus tipo 1 o diabetes tipo LADA (latent adult autoimmune diabetes).
- Enfermedad renal crónica definida de acuerdo a las guías K/DOQI (Kidney Disease Outcome Quality Initiative) publicadas por la National Kidney Foundation (NKF); en estadio 4 o 5 (tasa de filtrado glomerular entre 15-29 ml/min/1,73m<sup>2</sup> o menor de 15 ml/min/1,73m<sup>2</sup> respectivamente; calculada por la fórmula MDRD (del estudio Modification of Diet in Renal Disease) (181,182).
- Enfermedad pulmonar obstructiva crónica en estadio grave o muy grave, (volumen espiratorio forzado en el primer segundo postbroncodilatador de la espirometría entre un 30 y un 50% o menor de un 30% respectivamente), de acuerdo a las guías de Global Initiative for Obstructive Lung Diseases GOLD publicadas en 2007 (183).
- Pacientes diagnosticados de cualquier tipo de neoplasia en los 5 años previos a la inclusión.
- Pacientes que no presenten resultados válidos para el análisis en las pruebas de rigidez arterial o variabilidad de la frecuencia cardíaca realizadas (ver metodología, pag 42).

### **3.5. TAMAÑO MUESTRAL**

El tamaño muestral máximo del estudio retrospectivo planteado está limitado por la cantidad de pacientes evaluados y que además cumplan los criterios de inclusión y no de exclusión arriba descritos.

Siendo el objetivo principal del presente estudio evaluar el efecto sobre la disfunción autonómica de la edad, rigidez arterial, disfunción endotelial y estrés oxidativo, además de otras variables de interés, se estableció un tamaño muestral mínimo que permitiera controlar en dicha relación el efecto de  $k = 7$  variables independientes, mediante un modelo multivariante. Así, se estimó un tamaño muestral mínimo necesario de al menos  $10*(k+1) = 80$  individuos incluidos en el estudio.

Estimando que aproximadamente un 20% de los sujetos preseleccionados no cumplieran los criterios, el tamaño muestral final necesario teniendo en cuenta las posibles pérdidas, fue de 96 individuos.

### **3.6. PROCEDIMIENTOS**

A dichos pacientes, como práctica clínica habitual de la Unidad de Endotelio se les realizó una visita clínica con recogida de historia clínica (datos demográficos y anamnesis, exploración física completa que incluía toma de presión arterial y frecuencia cardíaca y parámetros antropométricos), estudio de biomarcadores de disfunción endotelial, y una evaluación del grado de rigidez arterial y disfunción autonómica, dentro del protocolo clínico de prevención y seguimiento de pacientes en estudio cardiometabólico. Todo ello realizado por el doctorando.

Las características basales en cuanto a factores de riesgo y tratamiento farmacológico, además de los marcadores bioquímicos mencionados para este estudio; quedaron recogidas en una base de datos de Excel creada para el mismo.

El estudio de la función autonómica por medida de variabilidad de la frecuencia cardíaca así como los estudios hemodinámicos y de rigidez arterial se realizaron con el dispositivo Sphygmocor (AtCor Medical Pty. Ltd, Sydney, Australia), que se encuentra disponible en la Unidad de Endotelio.

No se consideraron válidas para el estudio aquellas pruebas en las que no se alcanzara el control de calidad exigido en la captación de la onda de pulso (determinado de manera automática por el dispositivo Sphygmocor AtCor<sup>®</sup>) o en las que se detectara de novo alguna alteración en el registro electrocardiográfico como arritmia o extrasistolia, a excepción de extrasistolia aislada.

La técnica de realización de dichas exploraciones fue llevada a cabo por el doctorando, como personal adecuadamente formado y con experiencia en la práctica de la misma.

Estas pruebas se realizaron en una consulta acondicionada para ello, entre las 9:00 y las 11:30 horas para evitar variaciones diurnas, en ambiente tranquilo, a una temperatura constante de 22°C. Se instruyó a los pacientes para que tomaran un desayuno ligero el día de la prueba, así como no fumar, consumir alcohol ni bebidas con cafeína, ni realizar actividad física en las dos horas previas.

- Para el estudio de la función autonómica por medida de variabilidad de la frecuencia cardíaca se evaluaron cuatro modos, el primero de ellos como test basal (VFC en reposo) y los otros 3 como test dinámicos, tras estímulo (respiración profunda, Valsalva y bipedestación).

1. Test con patrón de respiración normal: que proporciona los parámetros de VFC en el dominio del tiempo (índice vagal en respiración normal-RMSSDn) y de la frecuencia (potencia en la banda de alta y baja frecuencia) en situación basal.
2. Test con patrón de respiración profunda: que proporciona parámetros de VFC en el dominio del tiempo (índice vagal en respiración profunda-RMSSDp) tras la respiración profunda.
3. Maniobra de Valsalva, que proporciona el ratio de Valsalva.
4. Maniobra de bipedestación, que proporciona el ratio 30:15.

- Modo 1:

Se realizó un estudio con registro electrocardiográfico continuado durante 5 minutos para realizar un “análisis a corto plazo”, definido este período de tiempo de 5 minutos de acuerdo a las recomendaciones Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.

El paciente permanece en posición de decúbito supino durante el registro y tras 5 minutos de descanso previo, con un patrón eupneico de respiración. Debe además permanecer quieto, sin hablar, moverse ni dormirse durante la prueba.

- Modo 2:

Estudio realizado con un patrón de respiración profunda, definido como 6 respiraciones profundas por minuto, manteniéndose el registro electrocardiográfico y el resto de las condiciones descritas en el Modo 1.

- Modo 3:

Se realizó la maniobra de Valsalva soplando a través de un tubo conectado a un manómetro para lograr una presión de 40 mmHg durante 15 segundos seguido de un periodo de relajación hasta normalización de 45 segundos. Todo ello simultáneamente al registro electrocardiográfico continuo.

- Modo 4:

Se realizó la maniobra de bipedestación, partiendo de una posición de decúbito supino de 5 minutos de reposo previo, con un registro electrocardiográfico continuo durante un mínimo de un minuto para asegurar la captura de suficientes latidos para el estudio del ratio 30:15.

Se consideró NAC límite por el estudio de VFC en respiración normal a aquellos pacientes que presentaron alteración en una de las 3 variables estudiadas (RMSSDn, potencia en la banda de alta y baja frecuencia) y se consideró diagnóstico de NAC a aquellos que presentaron dos o más de los índices alterados. En el caso de los test dinámicos, se consideró NAC límite a aquellos pacientes que presentaron alteración en una de las variables de los test (RMSSDp, ratio Valsalva, ratio 30:15) y diagnóstico de NAC a los que presentaron alteración en dos o más pruebas, tal y como se establece en la bibliografía (58).

Debido al tamaño muestral limitado y dado que el interés de la prueba para nuestro estudio no radica primordialmente en el diagnóstico de NAC en el paciente diabético, sino en la utilidad del método para screening de NAC (bien establecida -diagnóstica- o bien como estadio precoz subclínico -límite-) en una población, diabética y no diabética, de amplio espectro de riesgo cardiovascular, se realizó el análisis de las características clínicas, de la correlación con los biomarcadores y de la asociación con



la rigidez arterial discriminando únicamente dos grupos: pacientes con prueba positiva para NAC (límitrofe o establecida), lo que definimos como NAC global, y pacientes con prueba negativa para NAC (resultados dentro de la normalidad).

- Para el análisis de onda de pulso se coloca un manguito en el antebrazo del sujeto, estando en posición de sentado y con el brazo apoyado sobre una superficie plana y rígida. La captura de la forma de onda de la arteria radial se realiza mediante un sensor tonométrico (transductor de presión) durante al menos 12 segundos. La forma de onda calibrada de la tensión arterial en la aorta ascendente se deriva a partir de la forma de la tensión periférica (radial) mediante una función de transferencia validada.

- Para la velocidad de onda de pulso el paciente se coloca en decúbito supino con la cabeza ligeramente inclinada hacia la izquierda y los brazos extendidos a lo largo del tronco. Se mide con una cinta métrica, la distancia proximal, desde el manubrio esternal hasta el punto donde el pulso carotídeo se palpe más fuerte (en mm) y la distancia distal, desde el manubrio esternal hasta la arteria radial (en mm). El registro electrocardiográfico se capta con 3 electrodos colocados a nivel del manubrio esternal, centrotorácico en la parte distal de esternón y en el costado izquierdo.

A continuación se describen las variables de estudio y los distintos métodos de recogida de las mismas:

- Características antropométricas:

- Índice de masa corporal (IMC): definido de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud de su informe de 2000, como el cociente entre el peso de una persona en kilogramos por el cuadrado de su talla en metros ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ) (184).

- Características hemodinámicas:

- Presión arterial sistólica - PS (SP)- y diastólica – PD (DP): mediante un equipo OMROM 705 CP según guías de práctica clínica, medida en mmHg.

- Frecuencia cardíaca (FC): mediante un equipo OMRON 705 CP según guías de práctica clínica, medida en lpm.

- Características clínicas:

- Hipertensión arterial (HTA): definida de acuerdo a los criterios de las guías publicadas por la Sociedad Europea de Hipertensión de 2007 (185).

- Hipercolesterolemia, HDL bajo o hipertrigliceridemia de acuerdo a los criterios de las guías publicadas por The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel en 2001 (186).

- Diabetes mellitus y Prediabetes: definidas de acuerdo a los criterios de las guías publicadas por American Diabetes Association de 2008 (187).

Con el propósito de aislar el efecto de la prediabetes y solo para el estudio de dicha variable, se realizó un subgrupo dentro de la población final seleccionada en el que quedaron excluidos los pacientes diabéticos.

- Síndrome metabólico (SM): definida de acuerdo a los criterios de las guías publicadas por The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel en 2001 (186).

- Historia familiar de enfermedad cardiovascular precoz (ECV): definida como antecedentes familiares de primer grado de infarto de miocardio o accidente cerebrovascular antes de los 55 años en varones y de los 65 años en mujeres de acuerdo a las guías de prevención de enfermedad cardiovascular publicadas en 2007 por la Sociedad Europea de Cardiología (188).

- Parámetros de laboratorio:

- A1C: por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), medida en %.

- Colesterol total, HDL-colesterol, Triglicéridos y glucemia: mediante un equipo autoanalizador Hitachi, Colesterol LDL (mg/dl): fórmula de Friedewald:  $LDL = \text{colesterol Total} - (\text{HDL} + \text{triglicéridos}/5)$ , todos medido en mg/dl.

- Proteína C reactiva ultrasensible (PCR-us): por nefelometría (Siemens), medido en mg/L.

- Biomarcadores:

- ADMA: por ELISA, (DLD Diagnostika), medido en  $\mu\text{M/L}$ .
- PAI- 1: por ELISA (eBioscience Bender MedSystems), medido en ng/ml.
- Adiponectina: por ELISA (BioVendor), medido en  $\mu\text{g/ml}$ .
- rsTNF- $\alpha$  2: por ELISA (eBioscience Bender MedSystems), medido en ng/ml.
- Resistina: por ELISA (BioVendor), medido en ng/ml.
- TBARS: por colorimetría (Cayman Chemical), medido en  $\mu\text{M/L}$ .

• Parámetros de Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca: por Sphygmocor AtCor Medical.

- En el dominio del tiempo:

- FC (lpm)
- RR (ms)
- RR máximo (ms)
- RR mínimo (ms)
- Ratio máximo / mínimo
- RMSSD (Índice vagal) (ms)
- RMSSDn (Índice vagal en respiración normal) (ms)
- RMSSDp (Índice vagal en respiración profunda) (ms)
- NN50
- pNN50 (%)

- En el dominio de la frecuencia:

- Potencia total - PT (TP) en el período corto de 5 minutos ( $\text{ms}^2$ )
- Potencia en banda de baja frecuencia (LF) ( $\text{ms}^2$ )
- Potencia en la banda de alta frecuencia (HF) ( $\text{ms}^2$ )

- Potencia en la banda de baja frecuencia normalizada (%)
- Potencia en la banda de alta frecuencia normalizada (%)
- Ratio baja frecuencia / alta frecuencia (ratio LF / HF)

- Maniobra de Valsalva:

- FC (lpm)
- FC máxima durante Valsalva (lpm)
- FC mínima durante Valsalva (lpm)
- Ratio máximo / mínimo Valsalva (ratio Valsalva)

- Maniobra de bipedestación

- FC (lpm)
- FC máxima durante bipedestación (lpm)
- FC mínima durante bipedestación (lpm)
- Ratio máximo / mínimo bipedestación (ratio 30:15)

Los rangos de normalidad, ajustados por edad y sexo, determinados para el índice vagal en respiración normal y profunda, el ratio Valsalva y el ratio 30:15, fueron los descritos por Risk y Agelink, en sus respectivos estudios de 2001 para la estandarización de los test de variabilidad de la frecuencia cardíaca (78, 189) (ver anexo III).

• Parámetros hemodinámicos de rigidez arterial:

- Análisis de onda de pulso (PWA) (ver Anexo I)

- Presión sistólica central (Aortic SP), en mmHg.
- Presión diastólica central (Aortic DP), en mmHg.
- Presión de pulso (PP), en mmHg.
- Aumento de presión (AP), en mmHg.
- Índice de aumento de la presión arterial central (IAx) (Augmentation Index, AIx), en %.
- Índice de aumento de la presión arterial central corregido a 75 lpm (IAx-75 o AIx-75), en %.

- Velocidad de onda de pulso (PWV), en ms. (ver Anexo II).

### **3.7. ASPECTOS ÉTICOS**

Todos los procedimientos de recogida de la historia clínica, exploración física y pruebas complementarias, así como la extracción de muestras sanguíneas se encuentran dentro de la práctica clínica habitual de la Unidad Cardiometabólica del Hospital Ramón y Cajal.

El tratamiento de los datos se realizó de acuerdo a lo establecido en la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de carácter personal, comunicando a los pacientes que pueden ejercer el derecho de acceso, rectificación y cancelación de sus datos.

El presente estudio se llevó a cabo con arreglo al protocolo aprobado por el CEIC, a los principios establecidos en la Declaración de Helsinki (Anexo 3), a las directrices de buenas prácticas clínicas (BPC) del Comité Internacional de Armonización (ICH) y a la ley de Investigación Biomédica (14/2007, de 3 de julio).

### **3.8. ANÁLISIS DE DATOS**

Los datos quedaron recogidos en un Cuaderno de Recogida de Datos (CRD) diseñado a tal efecto y en papel. Posteriormente se pasaron a una base de datos informatizada propia.

Se realizó el análisis descriptivo de la población y de las variables recogidas mediante el paquete de análisis estadístico SPSS v15 (SPSS Inc.)

Debido a la no normalidad de la variable TBARS, se utilizó para su estudio la transformada resultante de aplicar el logaritmo decimal a dicha variable.

Las variables numéricas continuas se describieron con estimadores centrales (media, mediana) y de dispersión (desviación típica, rango intercuartílico).

La normalidad de las variables cuantitativas se evaluó mediante el test de Kolmogorov-Smirnov y distribución gráfica mediante histograma.

Contraste de hipótesis: La comparación de las diferencias respecto a basal entre los grupos se realizó mediante la prueba de t-Student para muestras independientes o el test de U de Mann-Whitney, según se verifique o no la hipótesis de normalidad, aplicando la corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Con el fin de estudiar la asociación entre variables cualitativas se utilizó la prueba de Chi cuadrado.

La correlación entre los parámetros de variabilidad de frecuencia cardiaca y los niveles de biomarcadores, así como los parámetros hemodinámicos centrales se llevó a cabo mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Las variables biomarcadores se dividieron en terciles de acuerdo a su distribución.

Para la estratificación de riesgo de la población según sus niveles de estrés oxidativo y disfunción endotelial de manera conjunta, se establecieron tres diferentes categorías de daño (bajo - medio - alto) en función de los terciles previamente definidos de los biomarcadores.

Para la evaluación de los resultados de NAC estratificada (establecida, limítrofe y normalidad) de los test basal y dinámicos y su asociación con los biomarcadores se realizó la prueba de ANOVA (analysis of variability).

Con el fin de estudiar los factores pronósticos de los distintos parámetros de disfunción autonómica (índice vagal en respiración normal y profunda, potencia en la banda de alta y baja frecuencia y los ratios de la maniobra de Valsalva y bipedestación) se crearon modelos multivariantes (regresión lineal múltiple, método “backwards”) en toda la población estudiada. Se incluyeron como variables independientes aquellas mostraron estar asociadas significativamente en los análisis univariantes, además de la edad y otras variables relacionadas con su patología basal, siempre que no se incurriera en colinealidad (número máximo de variables = 8).

Se consideró un valor de  $p < 0,05$  para la significación estadística.

### **3.9. MEDIOS Y RECURSOS MATERIALES DISPONIBLES**

- Pacientes en seguimiento en las consultas de la Unidad de Endotelio y Medicina Cardiometabólica del Servicio de Medicina Interna del Hospital Ramón y Cajal, Madrid, España.
- Estudios hemodinámicos no invasivos realizados en dicha Unidad.
- Sala de exploración de la Unidad.
- Sistema informático: base de datos Excel para Apple Mac.
- Paquete de análisis estadístico SPSS v15 (SPSS Inc.)
- Sphygmocor (AtCor Medical, Sydney, Australia), disponible en la Unidad

# 4. RESULTADOS

---



## 4. RESULTADOS

### 4.1. CARACTERÍSTICAS BASALES DE LA POBLACIÓN

Se preseleccionaron un total de N=100 sujetos de entre los pacientes atendidos en la Unidad, de los que se desestimaron 10 de ellos por criterios clínicos de exclusión y 3 más por extrasistolia frecuente detectada en el registro electrocardiográfico de los estudios no invasivos, que no había sido diagnosticada previamente y que no permite valorar los resultados de los mismos. Por tanto la población final de estudio, para la interpretación de datos y análisis estadístico de la VFC es de N = 87 sujetos.

Previo al análisis de las variables de estudio y debido a las modificaciones producidas durante el periodo de recogida de datos en los criterios diagnósticos de diabetes y prediabetes por las sociedades científicas, nos vimos obligados a utilizar los criterios diagnósticos vigentes y no los que se definieron en el apartado de metodología para estas dos entidades clínicas en el periodo de diseño del estudio. De este modo diabetes y prediabetes quedaron definidas de acuerdo a los criterios de la American Diabetes Association de 2010, que incorporaron el criterio de A1c  $\geq 6,5$  % como diagnóstico de diabetes y A1c entre 5,7 y 6,49 como diagnóstico de prediabetes.

De los 87 pacientes estudiados, 60,9% eran varones y 39,1% mujeres. La edad media fue de  $56,4 \pm 11,8$  años y el índice de masa corporal medio calculado fue de sobrepeso ( $26,4 \pm 4,1$ ). 56 (60,4%) sujetos estaban diagnosticados de hipertensión, 34 (39,1%) presentaban hipercolesterolemia, 51 (58,6%), niveles de HDL bajo y 23 (26,4%) hipertrigliceridemia. Presentaban diagnóstico de diabetes mellitus tipo 2, 30 pacientes (30,5%), criterios de prediabetes 31 (35,6%), 35 (40,2%) de síndrome metabólico y 24 (27,6%) de tabaquismo activo. En cuanto a los parámetros hemodinámicos basales se objetivó una presión arterial sistólica media de consulta de  $131,1 \pm 16,5$  mmHg, una presión diastólica de  $77,9 \pm 8,7$  y una frecuencia cardíaca media de  $68,8 \pm 12,4$  lpm. Las determinaciones bioquímicas así como el resto de parámetros de estudio recogidos quedan detallados en la siguiente tabla (tabla 5). Un 72,5% de los sujetos con diagnóstico de hipercolesterolemia tomaba estatinas; un 44,4% de los sujetos sin hipercolesterolemia tomaba estatinas, la diferencia es significativa con una p de 0,008.

<b>Variable (unidades)</b>	<b>Valor</b>
<b>Parámetros demográficos</b>	<b>Media (desviación típica) [rango] ó Nº pacientes (%)</b>
Edad (años)	56,4 (11,8) [22;81]
Sexo: mujeres (pacientes)	34,0 (39,1)
<b>Parámetros antropométricos</b>	<b>Media (desviación típica) [rango]</b>
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,4 (4,1) [17,7;40,4]
<b>Parámetros hemodinámicos</b>	<b>Media (desviación típica) [rango]</b>
Presión arterial sistólica (PS) en consulta (mmHg)	131,1 (16,5) [90;190]
Presión arterial diastólica (PD) en consulta (mmHg)	77,9 (8,7) [47;110]
Presión de pulso (PP) (mmHg)	53,2 (13,7) [29;100]
Presión arterial media (PM) (mmHg)	95,7 (9,9) [61;137]
Frecuencia cardíaca (FC) (lpm)	68,3 (12,4) [43;97]
<b>Parámetros bioquímicos</b>	<b>Media (desviación típica) [rango]</b>
Glucemia (mg/dl)	98,7 (27,2) [63;239]
A1C (%)	5,80 (0,89) [4,7; 10,9]
Colesterol total (mg/dl)	184,6 (38,8) [97;275]
LDL (mg/dl)	113,4 (34,5) [32;203]
HDL (mg/dl)	49,9 (12,4) [25;84]
TG (mg/dl)	104,5 (56,2) [31;361]
PCR ultrasensible (mg/L)	2,15 (2,04) [0,15;12,30]

<b>Parámetros clínicos</b>	<b>Nº pacientes (%)</b>
Tabaquismo activo	24 (27,6)
Hipertensión (HTA)	56 (60,4)
Hipertrofia ventricular izquierda (HVI)	12 (13,8)
Diabetes mellitus tipo 2	30 (34,5)
Prediabetes	31 (35,6)
Hipercolesterolemia	34 (39,1)
HDL bajo	51 (58,6)
Hipertrigliceridemia	23 (26,4)
Síndrome metabólico (SM)	35 (40,2)
Enfermedad coronaria (EC)	7 (8,0)
Historia familiar de enfermedad cardiovascular (ECV) precoz de primer grado	12 (14,0)

*Tabla 5. Características basales de la población de estudio (N=87). Variables numéricas descritas mediante media (desviación típica), [mínimo; máximo]. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%).*

A continuación se describen las medidas de VFC en la población de estudio según los distintos tipos de test.

En el caso del test de respiración normal y de respiración profunda se realizó el estudio de la VFC en el “análisis a corto plazo” de acuerdo a las recomendaciones de Task Force de 1996 (75). Para la valoración de los resultados se tomaron como puntos de corte los establecidos como rango de normalidad ajustados por edad y sexo definidos por Agelink et al (189) (para los test de respiración normal, respiración profunda y bipedestación) y Risk et al (78) (para el test de Valsalva), tal y como queda recogido en el apartado metodología, pag 48 y anexo III.

- Test de respiración normal: parámetros indicadores de NAC en el dominio del tiempo y de la frecuencia.

Variable (unidades)	Media	Desviación típica
FC (lpm)	65,7	3,6
RR (ms)	912,8	16,8
RR máximo (ms)	1021,6	19,9
RR mínimo (ms)	781,6	15,2
Ratio máximo / mínimo RR	1,33	0,03
RMSSDn (Índice vagal en respiración normal) (ms)	25,5	1,9
NN50	19,7	3,8
pNN50 (%)	6,5	1,3

Tabla 6. Medidas de VFC en reposo en el dominio del tiempo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.

Variable (unidades)	Media	Desviación típica
Potencia total en el período corto de 5 minutos (TP) (ms <sup>2</sup> )	878,3	107,5
Potencia en la banda de baja frecuencia (LF) (0,04 - 0,15 Hz) (ms <sup>2</sup> )	272,8	39,3
Potencia en la banda de alta frecuencia (HF) (0,15-0,4 Hz) (ms <sup>2</sup> )	219,5	32,8
Potencia en la banda de baja frecuencia normalizada (%)	57,6	2,2
Potencia en la banda de alta frecuencia normalizada (%)	42,4	2,2
Ratio baja frecuencia / alta frecuencia (ratio LF / HF)	2,21	0,23

Tabla 7. Medidas de VFC en reposo en el dominio de la frecuencia. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.

Tras el análisis realizado en el **dominio del tiempo** y de acuerdo al estudio de RMSSDn, se objetivó un total de N=3 (3,4 %) de los sujetos estudiados con valores anormalmente bajos de VFC como indicador de NAC.

Tras el análisis realizado en el **dominio de la frecuencia**, con las variables de potencia en la banda de baja y alta frecuencia, se objetivaron, respectivamente, un total de N=20 (23,0%) y N=17 (19,5%), de los sujetos con valores anormalmente bajos de VFC como indicador de NAC.

De acuerdo a los criterios establecidos para NAC limítrofe por el estudio de VFC en respiración normal (pacientes con alteración de un parámetro de entre: RMSSDn, potencia en la banda de alta frecuencia o potencia en la banda de baja frecuencia) y para NAC (pacientes con alteración en dos o más de los citados parámetros alterados), se objetivaron en el análisis conjunto de los distintos parámetros del test basal un total de N=19 (21,8%) de sujetos con NAC limítrofe y N=9 (10,4%) de sujetos con datos de NAC (de los que 3 pacientes presentaban alteración en las tres medidas). Un total de N=59 pacientes (67,8 %) presentaron valores normales de los tres parámetros de estudio de VFC en reposo (fig 2).

A continuación se detalla el porcentaje de **diabéticos** en cada grupo así como las características en cuanto a **edad** y **sexo**.

	<b>NACbasal</b>	<b>NACbasal límitrofe</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
<b>Diabetes</b>	5 (55,6)	8 (42,1)	17 (28,8)	0,213
<b>Edad (años)</b>	60,4 (8,6)	52,3 (14,4)	57,1 (11,2)	0,177
<b>Sexo: mujer</b>	5 (55,6)	10 (52,6)	19 (32,2)	0,160

*Tabla 8. Características de la población: diabetes, edad y sexo y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). Variables numéricas descritas como media y y desviación típica.*

Con el fin de aislar el efecto de la **prediabetes** se realizó el análisis entre ésta variable y la presencia o no de datos de NAC en el test basal únicamente en el subgrupo de población resultante de la exclusión de los pacientes diagnosticados de diabetes del grupo inicial de 87 sujetos. De este modo se dispuso de un subgrupo de N = 57 pacientes. Este mismo procedimiento se aplicó en el análisis de los test dinámicos tal y como se detalla más adelante.

Se objetivó una asociación estadísticamente significativa ( $p=0,008$ ) entre el estadio prediabético y la presencia de datos de NAC en el análisis estratificado (NAC, NAC limítrofe y normalidad) de los resultados del test basal (tabla 9), de tal forma que el 100% de los sujetos del subgrupo que presentaban NAC eran prediabéticos.

	NACbasal	NACbasal limítrofe	Normal	Significación estadística (p)
<b>Prediabetes</b>	4 (100%)	2 (18,2)	25 (59,5)	0,008

Tabla 9. Estadío prediabético y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%).

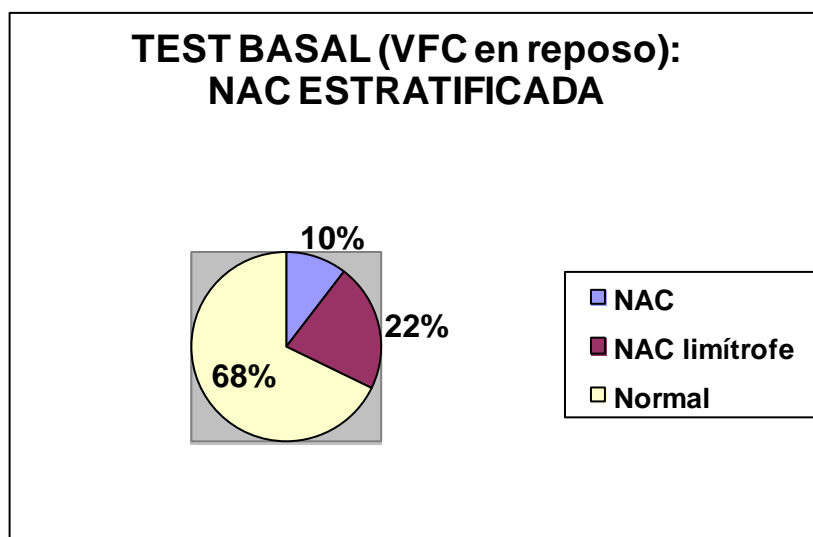


Fig 2. Distribución de la población de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basales (evaluado por RMSSDn y potencia en la banda de baja y alta frecuencia) según la presencia de indicios de NAC y su estratificación (NAC, NAC limítrofe o normal). Descrito en porcentaje (%).

- **Test de respiración profunda: parámetros indicadores de NAC en el dominio del tiempo**

Variable (unidades)	Media	Desviación típica
FC (lpm)	66,4	3,8
RR (ms)	904,0	15,9
RR máximo (ms)	1065,7	20,9
RR mínimo (ms)	757,5	14,8
Ratio máximo / mínimo RR	1,43	0,03
RMSSDp (Índice vagal en respiración profunda) (ms)	34,8	2,6
NN50	36,5	4,7
pNN50 (%)	11,7	1,6

*Tabla 10. Medidas de VFC en respiración profunda en el dominio del tiempo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Tras el análisis realizado en el **dominio del tiempo** en respiración profunda se objetivó un total de N= 4 (4,6%) pacientes con valores anormalmente bajos de RMSSDp como indicador de NAC.

- **Maniobra de Valsalva: ratio Valsalva como indicador de NAC**

Variable (unidades)	Media	Desviación típica
FC (lpm)	66,6	3,9
FC máxima durante Valsalva (lpm)	93,6	2,0
FC mínima durante Valsalva (lpm)	56,6	1,0
Ratio máximo / mínimo Valsalva (Ratio Valsalva)	1,67	0,03

*Tabla 11. Medidas de VFC en Valsalva. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Se objetivaron N = 15 (17,2%) pacientes con un ratio Valsalva indicador de NAC. De estos 15 sujetos, 7 de ellos (46,7%) no habían presentado alteración en las pruebas previas de respiración normal y profunda).

• **Maniobra de bipedestación: ratio 30:15 como indicador de NAC**

<b>Variable (unidades)</b>	<b>Media</b>	<b>Desviación típica</b>
FC (lpm)	73,1	4,1
FC máxima (lpm)	85,6	1,4
FC mínima (lpm)	68,5	1,4
Ratio máximo / mínimo bipedestación (ratio 30:15)	1,27	0,02

*Tabla 12. Medidas de VFC en bipedestación. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Tras el análisis del ratio 30:15, N = 10 (11,5%) se identificaron como sujetos con valores de VFC tras la bipedestación indicadores de NAC.

En el análisis conjunto de los distintos parámetros de las pruebas dinámicas y de acuerdo a los criterios para NAC limítrofe (pacientes que presentaron alteración en RMSSDp, ratio Valsalva o ratio 30:15) y para diagnóstico de NAC (pacientes con alteración en dos o más de las citadas pruebas), tal y como se establece en la bibliografía, se determinaron un total de N=19 (21,8%) de sujetos con NAC limítrofe y N=4 (4,6%) de sujetos con diagnóstico compatible con NAC. Un total de N=64 pacientes (73,6%) presentaron valores normales de los tres parámetros de estudio de VFC en reposo (fig 3).



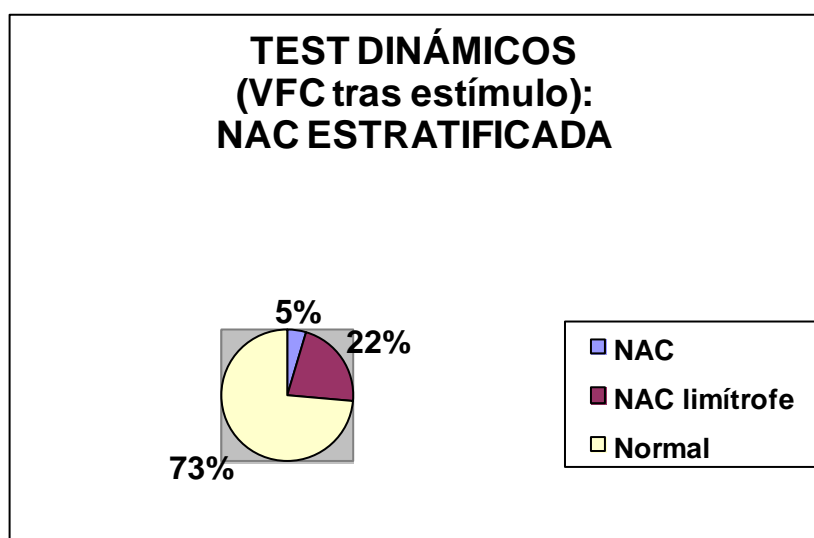


Fig 3. Distribución de la población de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test dinámicos (evaluado por RMSSDp, Valsalva y bipedestación) según la presencia de indicios de NAC y su estratificación (NAC, NAC limítrofe o normal). Descrito en porcentaje (%).

A continuación se detalla el porcentaje de **diabéticos** en cada grupo así como las características en cuanto a **edad y sexo**:

	NACdinámico	NACdinámico limítrofe	Normal	Significación estadística (p)
<b>Diabetes</b>	2 (50,0)	7 (36,8)	21 (32,8)	0,759
<b>Edad (años)</b>	57,3 (6,4)	55,5 (15,4)	56,6 (11,0)	0,935
<b>Sexo: mujer</b>	3 (75,0)	10 (52,6)	21 (32,8)	0,096

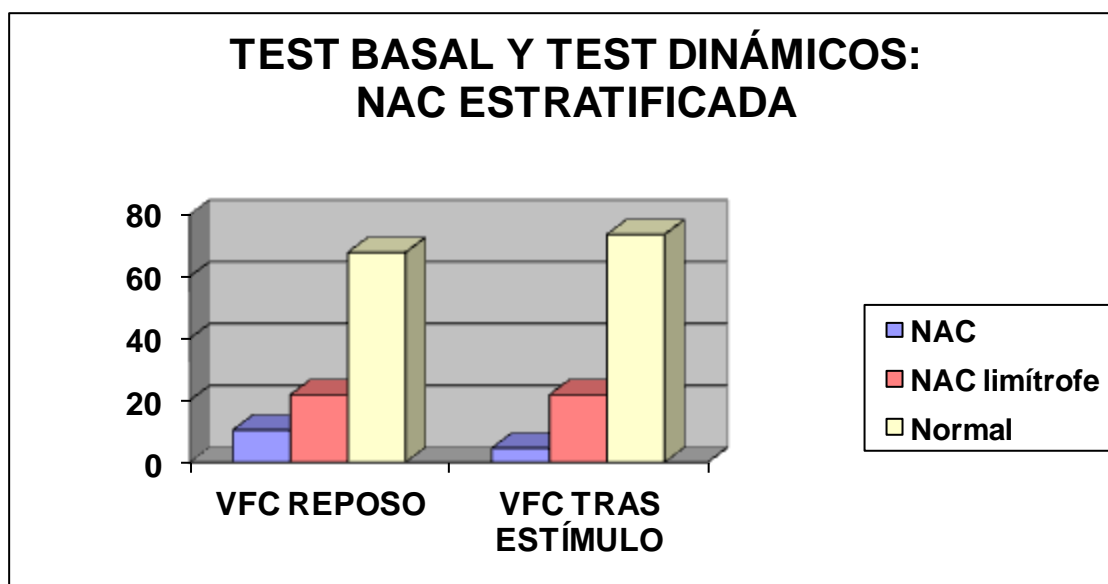
Tabla 13. Características de la población: diabetes, edad y sexo y su asociación con NAC en test dinámicos en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%). Variables numéricas descritas como media y desviación típica.

En cuanto a los sujetos diagnosticados de **prediabetes** y su asociación con la NAC en test dinámicos no se alcanzó la significación estadística.

	NACdinámico	NACdinámico limítrofe	Normal	Significación estadística (p)
<b>Prediabetes</b>	2 (100%)	5 (41,7)	24 (55,8)	0,287

Tabla 14. Estadío prediabético y su asociación con NAC en test basal en el estudio estratificado (NAC, NAC limítrofe o normal). Variables binomiales descritas como N y porcentaje (%).

La siguiente gráfica representa, a modo de resumen los hallazgos de NAC según el tipo de test. La mayor parte de la población (en torno a un 70%) obtuvo resultados en el rango de la normalidad en cada una de las pruebas. El porcentaje de pacientes con datos de NAC fue bajo: de un 5 a un 10% según el test. No hubo diferencias en el porcentaje de NAC limítrofe según el tipo de test.



*Fig 4. Distribución de la población según la presencia de indicios de NAC, y su estratificación (NAC, NAC limítrofe o normal), de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basal vs test dinámicos. Descrito en porcentaje (%).*

Como se comentó en el apartado de metodología, debido al tamaño muestral y dado que el interés de la prueba para nuestro estudio no radica primordialmente en el diagnóstico de NAC en el paciente diabético, sino en la utilidad del método para screening de NAC (bien establecida -diagnóstica- o bien como estadio precoz subclínico -limítrofe-) en una población, diabética y no diabética de amplio espectro de riesgo cardiovascular, se realizó el análisis de las características clínicas, de la correlación con los biomarcadores y de la asociación con la rigidez arterial discriminando únicamente dos grupos: pacientes con prueba positiva para NAC (limítrofe o establecida), lo que definimos como NAC global, y pacientes con prueba negativa para NAC (resultados dentro de la normalidad).

De este modo, se encontraron un total de N=28 (32,2%) pacientes con indicios de NAC por medida de VFC en reposo (basal) y N=23 (26,4%) con indicios de NAC por medida de VFC tras estímulo (fig 5).

El análisis se realizó de manera independiente según el tipo de test (reposo vs dinámico).

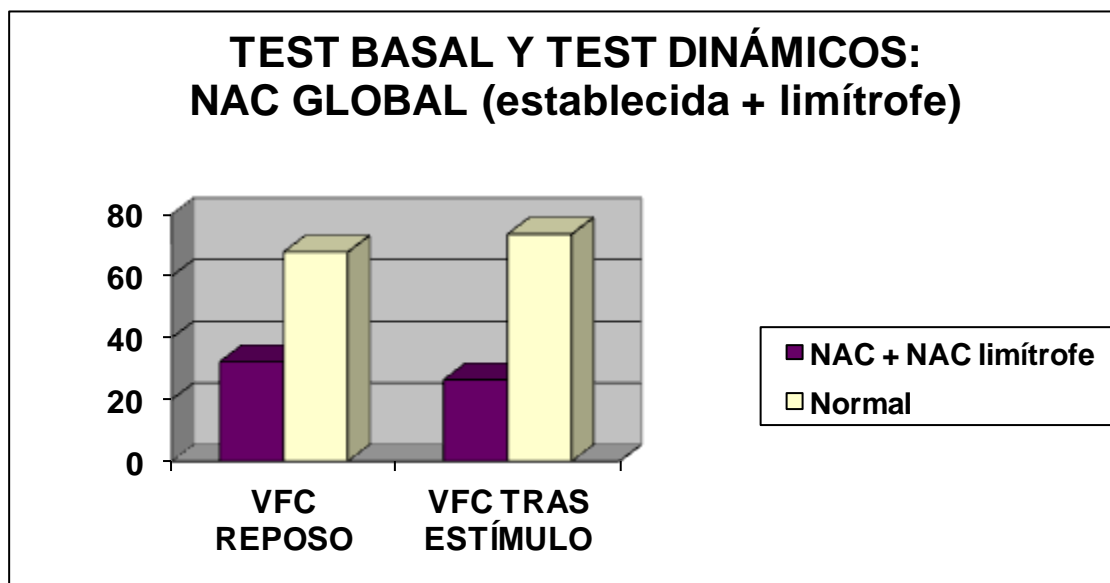


Fig 5. Distribución de la población según la presencia de indicios de NAC global (establecida + límite) o normalidad, de acuerdo a los resultados del análisis de VFC en los test basal vs test dinámicos. Descrito en porcentaje (%).

#### 4.2. RELACIÓN ENTRE LAS CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN (CLÍNICAS, ANTROPOMÉTRICAS, HEMODINÁMICAS Y METABÓLICAS) Y LA NEUROPATÍA AUTÓNOMICA CARDÍACA

Las características de la población estudiada se analizaron en los dos tipos de test de VFC (basal y dinámicos), para evaluar las diferencias entre los grupos con y sin disfunción autonómica.

### 4.2.1. Características de la población y hallazgos en el test basal

- Evaluación demográfica:

No hubo diferencias significativas en la edad de los grupos, que presentaban una edad media en torno a los 55 años. En cuanto al sexo, se observó una mayor presencia de mujeres en el grupo con NAC en el test basal (N= 15, 53,6%) que en el grupo libre de enfermedad (N=19; 32,2%).

- Evaluación antropométrica:

No se objetivó significación estadística con los niveles de IMC, encontrándose ambos grupos (con y sin NAC) en rango de sobrepeso.

- Evaluación hemodinámica:

Se objetivó significación estadística de la NAC con la frecuencia cardíaca ( $p= 0,001$ ), siendo más elevada en el grupo con pruebas positivas, mientras que el resto de parámetros hemodinámicos no presentaron ninguna correlación.

- Evaluación metabólica:

Se demostró significación estadística en los niveles de A1C (0,048), siendo ésta 0,41 puntos más baja en ausencia de datos de NACbasal, los niveles de glucemia muestran esta misma tendencia aunque permanecen en niveles limítrofes de significación estadística, presentando unos niveles de glucemia en ayunas en rango de prediabetes en el grupo con datos de NAC.

Los niveles de PCR-us más elevados se asociaron al grupo con datos de NAC en el test basal de manera estadísticamente significativa.

- Evaluación clínica:

Sin llegar a alcanzar la significación estadística se observó una tendencia a la asociación con los diagnósticos de diabetes (46,4% en el grupo con datos de NACbasal vs un 28,8% en el grupo normal) y enfermedad coronaria (14,3% en el grupo con NAC frente a 5,1% en el grupo normal). El resto de diagnósticos clínicos, analizados se

distribuyeron de manera similar en ambos grupos, incluyendo la prediabetes que en el análisis estratificado apareció como significativa.

<b>Variable (unidades)</b>	<b>NACbasal</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
Edad (años)	54,9 (13,2)	57,08 (11,2)	0,427
Sexo: mujeres (%)	15 (53,6)	19 (32,2)	0,056
<b>Parámetros antropométricos</b>			
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,0 (4,32)	26,1 (4,03)	0,306
<b>Parámetros hemodinámicos</b>			
PS consulta (mmHg)	129,1 (15,7)	132,1 (16,9)	0,443
PD consulta (mmHg)	78,5 (7,07)	77,7 (9,42)	0,702
PP (mmHg)	50,7 (12,7)	54,4 (14,1)	0,244
PM (mmHg)	95,4 (8,94)	95,8 (10,5)	0,841
FC consulta (lpm)	74,7 (11,0)	65,3 (12,0)	0,001
<b>Parámetros bioquímicos</b>			
Glucemia (mg/dl)	106,4 (38,1)	95,1 (19,5)	0,070
A1C (%)	6,08 (1,19)	5,67 (0,68)	0,048
Colesterol total (mg/dl)	183,2 (37,9)	185,2 (39,6)	0,828
LDL (mg/dl)	113,2 (30,8)	113,5 (36,4)	0,973
HDL (mg/dl)	49 (12,7)	50,3 (12,4)	0,646
TG (mg/dl)	105,9 (62,2)	103,8 (53,7)	0,686
PCR us (mg/L)	2,86 (2,85)	1,81 (1,42)	0,024
<b>Parámetros clínicos</b>			
Tabaquismo activo	6 (21,4)	18 (30,5)	0,376
HTA	17 (60,7)	39 (66,1)	0,624
HVI	4 (14,3)	8 (13,6)	0,927
Diabetes tipo 2	13 (46,4)	17 (28,8)	0,106

Prediabetes	6 (40,0%)	25 (59,5)	0,193
Hipercolesterolemia	11 (39,3)	40 (67,8)	0,012
HDL bajo	13 (46,4)	21 (35,6)	0,333
Hipertrigliceridemia	7 (25,0%)	16 (27,1%)	0,834
Síndrome metabólico	13 (46,4)	22 (37,3)	0,417
Enfermedad coronaria	4 (14,3)	3 (5,1)	0,140
Historia familiar de ECV precoz de primer grado	4 (14,8)	8 (13,6)	0,876

*Tabla 15. Características basales de la población de estudio y su relación con la presencia o no de NAC global en los test basales. Variables numéricas descritas mediante media  $\pm$  desviación típica. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%).*

#### **4.2.2. Características de la población y hallazgos en los test dinámicos**

- Evaluación demográfica:

Al igual que en el test basal, no hubo diferencias significativas en la edad de los grupos. En cuanto al sexo, que se estimaba limítrofe en el test basal, aparece estadísticamente significativo ( $p=0,046$ ), siendo mujeres un 56,5% ( $N=13$ ) del grupo con datos de NAC frente a un 23,8% ( $N=21$ ) en el grupo con resultados en test dinámicos dentro de la normalidad.

- Evaluación antropométrica:

Al igual que en el test basal no se objetivó significación estadística con los niveles de IMC, encontrándose ambos grupos (con y sin NAC) en rango de sobrepeso.

- Evaluación hemodinámica:

Se mantuvo la significación estadística de la NAC con la frecuencia cardíaca (0,042), siendo más elevada en el grupo con pruebas positivas, mientras que el resto de parámetros estudiados de presión arterial no presentaron ninguna correlación.

- Evaluación metabólica

Se demostró significación estadística en los niveles de A1C (0,047), siendo ésta 0,43 puntos más baja en ausencia de datos de NACdinámico, los niveles de glucemia mostraron esta misma tendencia aunque permanecieron en niveles limítrofes de significación estadística, presentando unos niveles de glucemia basal en ayunas en rango de prediabetes en el grupo con datos de NAC.

La relación entre PCR-us y disfunción autonómica no alcanzó la significación estadística a diferencia de lo observado en el análisis del test basal.

- Evaluación clínica:

Un 39,1% de los pacientes con indicios de NAC estaban diagnosticados de diabetes mellitus tipo 2. Un porcentaje menor de sujetos con diabetes, aunque no con una diferencia estadísticamente significativa, se detectó en el grupo sin datos de NAC. El diagnóstico de enfermedad coronaria alcanzó la significación estadística ( $p > 0,001$ ), a diferencia del test basal. El resto de diagnósticos clínicos analizados se distribuyeron de manera similar en ambos grupo, incluyendo el estadio prediabético.

<b>Variable (unidades)</b>	<b>NACdinámico</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
Edad (años)	55,8 (14,2)	56,6 (11,0)	0,822
Sexo: mujeres (%)	13 (56,5)	21 (32,8)	0,046
<b>Parámetros antropométricos</b>			
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	26,05 (4,46)	26,52 (4,03)	0,641
<b>Parámetros hemodinámicos</b>			
PS consulta (mmHg)	130,0 (17,06)	131,5 (16,4)	0,705
PD consulta (mmHg)	76,4 (6,55)	78,5 (9,33)	0,322
PP (mmHg)	53,6 (14,6)	53,0 (13,6)	0,864
PM (mmHg)	94,3 (8,86)	96,2 (10,3)	0,431
FC consulta (lpm)	72,8 (12,6)	66,7 (12,0)	0,042

<b>Parámetros bioquímicos</b>			
Glucemia (mg/dl)	107,0 (40,8)	95,8 (19,9)	0,093
A1C (%)	6,12 (1,38)	5,69 (0,62)	0,047
Colesterol total (mg/dl)	187,3 (44,9)	183,7 (36,7)	0,705
LDL (mg/dl)	114,9 (39,1)	112,9 (33,0)	0,818
HDL (mg/dl)	49,3 (13,3)	50,1 (12,2)	0,777
TG (mg/dl)	113,9 (61,4)	101,1 (54,4)	0,354
PCR us (mg/L)	2,65 (2,93)	1,97 (1,60)	0,297
<b>Parámetros clínicos</b>			
Tabaquismo activo	8 (34,8)	16 (25,0)	0,368
HTA	16 (69,6)	40 (62,5)	0,5444
HVI	3 (13,0)	9 (14,1)	0,903
Diabetes tipo 2	9 (39,1)	21 (32,8)	0,585
Prediabetes	7 (50,0%)	24 (55,8)	0,704
Hipercolesterolemia	9 (39,1)	42 (65,6)	0,027
HDL bajo	12 (52,2)	22 (34,4)	0,133
Hipertrigliceridemia	4 (17,4)	19 (29,7)	0,251
Síndrome metabólico	9 (39,1)	26 (40,6)	0,900
Enfermedad coronaria	6 (26,1)	1 (1,6)	< 0,001
Historia familiar de ECV precoz de primer grado	3 (13,0)	9 (14,3)	0,883

*Tabla 16. Características basales de la población de estudio y su relación con la presencia o no de NAC global en los test dinámicos. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. Variables binomiales descritas mediante número (porcentaje): n (%).*

A continuación se procedió a evaluar la posible asociación entre los distintos **parámetros de medida de la VFC en los test basal y dinámicos con la edad y el sexo.**



En primer lugar, se realizó un estudio de correlación lineal entre la edad y las variables de medida de VFC, apareciendo una asociación estadísticamente significativa con todas las variables a excepción de la potencia en la banda de HF y el ratio Valsalva que no alcanzaron dicha significación. Los resultados se detallan en la siguiente tabla:

	<b>RMSSDn (ms)</b>	<b>Potencia en banda LF (ms<sup>2</sup>)</b>	<b>Potencia en banda HF (ms<sup>2</sup>)</b>	<b>RMSSDp (ms)</b>	<b>Ratio Valsalva</b>	<b>Ratio 30:15</b>
<b>Edad (años)</b>						
r	-0,166	-0,276	-0,158	-0,245	-0,019	-0,569
p	0,025	0,010	0,144	0,022	0,858	<0,001

Tabla 17. Correlación lineal entre la edad y las distintas variables de medida de la VFC. r: coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística.

A continuación se analizaron las diferencias entre hombres y mujeres para cada una de las variables de la VFC (tabla 18), encontrándose q solo había diferencias significativas para el ratio 30:15 (fig. 6) y al límite de la significación para la potencia en la banda de baja frecuencia.

	<b>RMSSDn (ms)</b>	<b>Potencia en banda LF (ms<sup>2</sup>)</b>	<b>Potencia en banda HF (ms<sup>2</sup>)</b>	<b>RMSSDp (ms)</b>	<b>Ratio Valsalva</b>	<b>Ratio 30:15</b>
<b>Sexo</b>						
* M	22,2(16,8)	180,5(243,3)	186,6(266,3)	31,8(20,5)	1,66(0,35)	1,21(0,14)
**V	28,1(18,7)	332,0(419,3)	240,5(330,0)	36,7(26,0)	1,68(0,31)	1,30(0,16)
p	0,137	0,633	0,060	0,427	0,681	0,011

Tabla 18. Asociación entre el sexo y las distintas variables de medida de la VFC. \*M: mujeres; \*\* V: varones. p: significación estadística. Variables numéricas descritas como media y desviación típica.

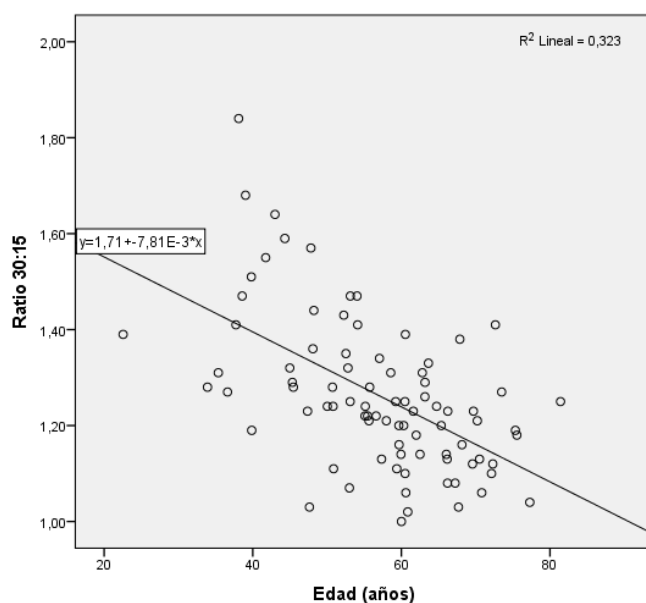


Fig 6. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson,  $r$ ) entre edad (años) y ratio 30:15.

### 4.3. RELACIÓN ENTRE NEUROPATÍA AUTONÓMICA CARDÍACA Y RIGIDEZ ARTERIAL

Para el análisis de la rigidez arterial se disponía de una población total de  $N = 79$  en la medida indirecta de rigidez por análisis de onda de pulso (PWA) y  $N = 71$  en la medida directa de rigidez por velocidad de onda de pulso (PWV). De los 87 sujetos inicialmente seleccionados, se excluyeron un total de 8 y 16 pacientes respectivamente en cada grupo, debido a que no cumplieron los criterios de calidad de la prueba.

Los niveles de rigidez arterial medidos en nuestra población se observan en la tabla 19.

Rigidez arterial (unidades)	Media	Desviación típica
<i>Análisis de onda de pulso (%)</i>		
IAx-75	24,0	10,7
<i>Velocidad de onda de pulso (m/s)</i>		
PWV	7,76	1,09

Tabla 19. Niveles de rigidez arterial en la población de estudio, medida por análisis y velocidad de onda de pulso. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.

En el estudio de asociación de la **rigidez arterial con la edad y el sexo** se obtuvo un resultado estadísticamente significativo de la relación entre IAx-75 con edad y con el sexo, mientras que no se observó asociación de PWV con ninguno de ellos. (Tabla 20 y 21) (Fig.7-9).

	IAx-75	PWV
<b>Edad (años)</b>		
r	0,582	0,049
p	<0,001	0,684

Tabla 20. Correlación lineal entre la rigidez arterial medida por IAx-75 (en %) y la edad (en años). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística.

	IAx-75	PWV
<b>Sexo</b>		
*M	30 (6,71)	7,70 (1,14)
**V	20,6 (11,0)	7,80 (1,07)
p	< 0,001	0,688

Tabla 21. Asociación entre la rigidez arterial medida por IAx-75 (en %) y el sexo. Variables numéricas descritas como media y desviación típica.

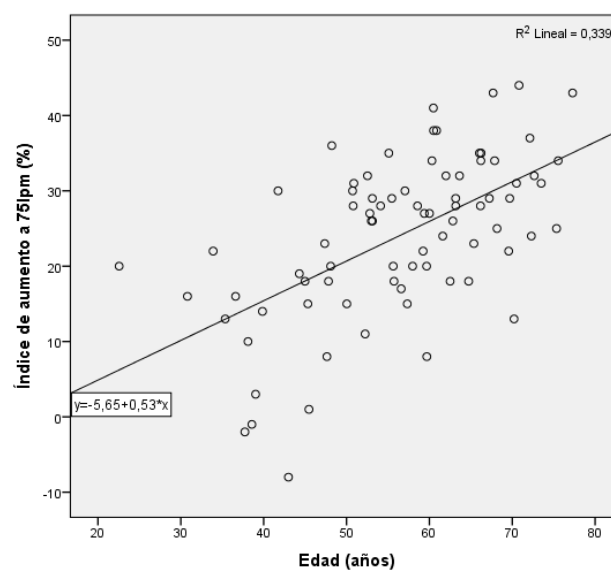


Fig 7. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %).

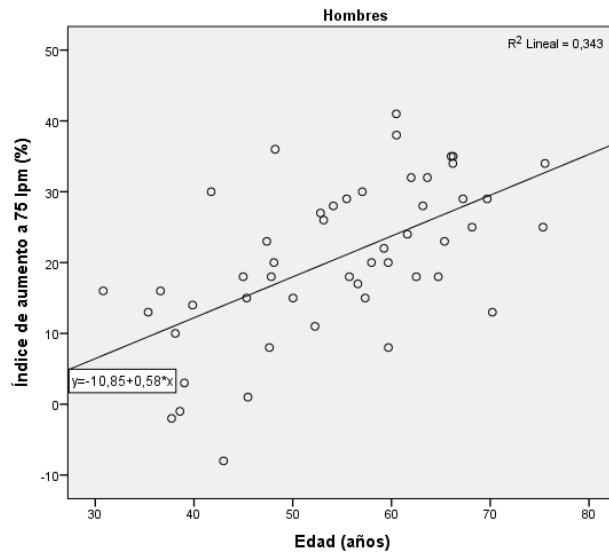


Fig 8. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) en varones e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %).

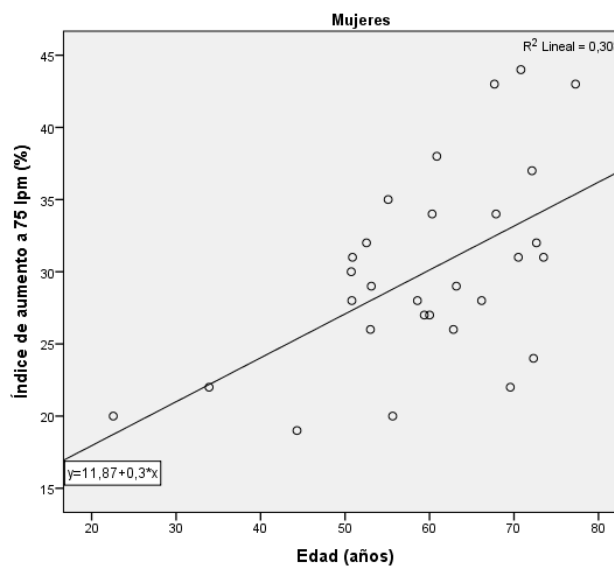


Fig 9. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre edad (en años) en mujeres e Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %).

En cuanto al estudio de la relación entre rigidez arterial y NAC se establecieron dos grupos según la presencia o no de datos de NAC (bien establecida o limítrofe) por cualquiera de los test de la VFC.

Se analizó la relación entre los grupos con y sin datos de NAC en cada uno de los test (basal y dinámicos) por medida de VFC y la rigidez arterial sin que se objetivaran

diferencias estadísticamente significativas en ninguno de los dos modos de medida de esta última (IAx-75, PWV). Si bien, se observó una tendencia a la significación estadística del Índice de aumento corregido a 75 lpm en los test dinámicos.

Rigidez arterial	NACbasal	Normal	Significación estadística (p)
<i>Análisis de onda de pulso (%)</i>			
IAx-75	23,7 (11,2)	24,2 (10,5)	0,842
<i>Velocidad de onda de pulso (m/s)</i>			
PWV	7,56 (1,13)	7,87 (1,07)	0,270

*Tabla 22. Relación global de datos de NAC en test basal con rigidez arterial medida por métodos no invasivos (análisis y velocidad de onda de pulso). Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Rigidez arterial	NACdinámico	Normal	Significación estadística (p)
<i>Análisis de onda de pulso (%)</i>			
IAx-75	27,14 (10,26)	22,84 (10,66)	0,109
<i>Velocidad de onda de pulso (m/s)</i>			
PWV	7,95 (1,09)	7,70 (1,09)	0,398

*Tabla 23. Relación global de datos de NAC en test dinámicos con rigidez arterial medida por métodos no invasivos (análisis y velocidad de onda de pulso). Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Al realizarse el estudio de correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre los parámetros de VFC de los test de reposo y tras estímulo, se observó una correlación negativa estadísticamente significativa (es decir, a mayor rigidez arterial menor VFC) entre el índice de aumento corregido a 75 lpm y el índice vagal en reposo, la potencia en la banda de baja, alta frecuencia y el ratio 30:15; con una r de -0,230, -0,280, -0,271 y -0,455 respectivamente. El índice vagal en el test de respiración profunda presentó un coeficiente de correlación de -0,220 con una p limítrofe para la significación estadística (0,052). No se demostró significación estadística con el ratio Valsalva (r=-0,034, p=0,763) (tabla 24, fig. 10-13).

	RMSSDn (ms)	Potencia en banda LF (ms <sup>2</sup> )	Potencia en banda HF (ms <sup>2</sup> )	RMSSDp (ms)	Ratio Valsalva	Ratio 30:15
<b>IAx-75 (%)</b>						
r	- 0,230	- 0,280	- 0,271	- 0,220	- 0,034	- 0,455
p	0,042	0,013	0,016	0,052	0,763	<0,001

Tabla 24. Correlación lineal entre Índice de aumento corregido a 75 lpm (en %) y los distintos índices de la VFC en los test basal y dinámicos. RMSSDn: índice vagal en patrón de respiración normal. RMSSDp: índice vagal en patrón de respiración profunda. r: coeficiente de correlación de Pearson, p: significación estadística.

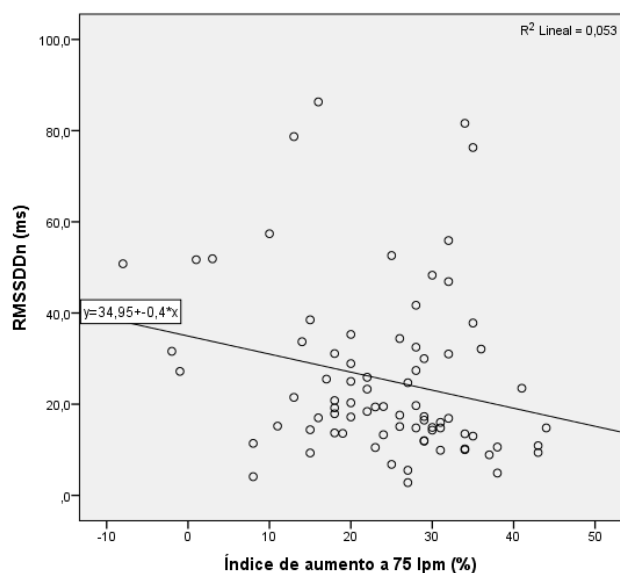


Fig 10. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre Índice vagal en test basal (representado en la figura como RMSSDn, en ms) y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %.

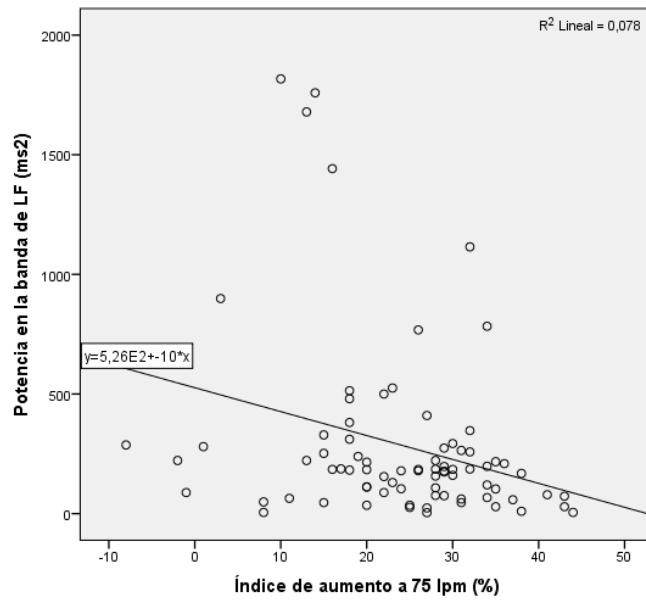


Fig 11. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre la Potencia en la banda de baja frecuencia (LF), en ms y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %.

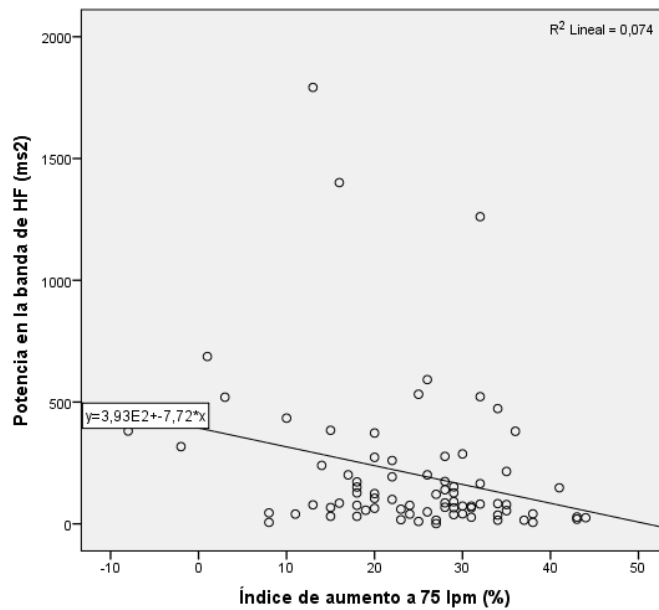


Fig 12. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre la Potencia en la banda de alta frecuencia (HF), en ms y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %.

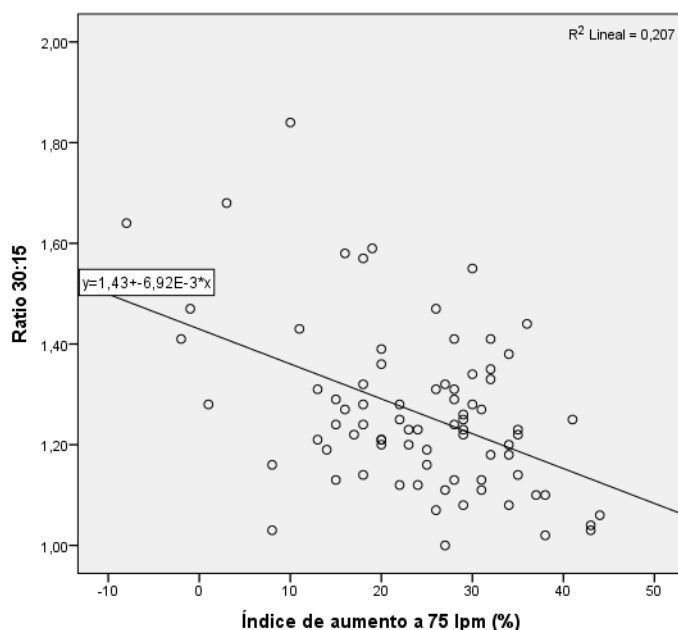


Fig 13. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) entre el ratio 30:15 y el Índice de aumento corregido a 75 lpm, en %.

Tras el análisis de correlaciones univariante entre el índice de aumento corregido a 75 lpm y los parámetros de medida de la VFC por los distintos test, se realizó el **análisis por modelo de regresión múltiple**.

De este modo, la relación entre rigidez arterial medida por IAx-75 y cada uno de los parámetros de NAC fue analizada ajustando por sexo y edad, mediante los citados modelos de regresión lineal múltiple, con el coeficiente de correlación no estandarizado:  $\beta$  (tablas 25-30).

Al introducir el efecto de la edad y el sexo del paciente en la relación entre IAx-75 y las variables de índice vagal en patrón de respiración normal, la potencia en la banda de baja y alta frecuencia y el ratio 30:15, dejó de ser estadísticamente significativa.

No hubo diferencias en cuanto al ratio Valsalva, que continuó siendo no significativo, y la relación IAx-75 y RMSSD en patrón de respiración profunda, que en la correlación univariante se encontraba al límite de la significación estadística, apareció como no significativo.



Variable dependiente (unidades)	r <sup>2</sup>	p modelo
IAX-75 (%)	0,442	<0,001
<b>Variables Independientes (unidades)</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
RMSSDn (ms)	-0,039	0,456
Edad (años)	0,456	<0,001
Sexo: mujer	6,817	0,001

Tabla 25. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAX-75 e Índice vagal en test basal (RMSSDn, en ms) ajustado por edad y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

Variable dependiente (unidades)	r <sup>2</sup>	p modelo
IAX-75 (%)	0,443	<0,001
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Potencia en la banda LF (ms <sup>2</sup> )	-0,002	0,373
Edad (años)	0,447	<0,001
Sexo: mujer	6,834	0,001

Tabla 26. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAX-75 y potencia en la banda de baja frecuencia (LF), en ms<sup>2</sup>, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

Variable dependiente	r <sup>2</sup>	p modelo
AIx-75 (%)	0,454	<0,001
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Potencia en la banda HF (ms <sup>2</sup> )	-0,005	0,133
Edad (años)	0,443	<0,001
Sexo: mujer	6,821	0,001

Tabla 27. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAX-75 y potencia en la banda de alta frecuencia (HF), en ms<sup>2</sup>, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

Variable dependiente	r <sup>2</sup>	p modelo
AIx-75 (%)	0,442	<0,001
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
RMSSDp (ms)	-0,030	0,446
Edad (años)	0,452	<0,001
Sexo: mujer	6,972	0,001

Tabla 28. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 e Índice vagal en test dinámicos de respiración profunda (RMSSDp), en ms, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

Variable dependiente	r <sup>2</sup>	p modelo
AIx-75 (%)	0,438	<0,001
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Ratio Valsalva	0,652	0,814
Edad (años)	0,466	<0,001
Sexo: mujer	7,051	0,001

Tabla 29. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y ratio Valsalva, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

Variable dependiente	r <sup>2</sup>	p modelo
AIx-75 (%)	0,445	<0,001
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Ratio 30:15	-7,262	0,307
Edad (años)	0,411	<0,001
Sexo: mujer	6,680	0,001

Tabla 30. Correlación multivariante ( $\beta$  no estandarizada): relación entre rigidez arterial, medida por IAx-75 y ratio Valsalva, ajustado por edad (en años) y sexo. Se objetivó significación estadística para las variables edad y sexo.

#### 4.4. RELACIÓN ENTRE NAC Y BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO (TBARS), DISFUNCIÓN ENDOTELIAL (ADMA Y PAI-1) Y ADIPOQUINAS (ADIPONECTINA, TNF- $\alpha$ , RESISTINA)

En cuanto a los **biomarcadores**, se distribuyeron de la siguiente manera en nuestra serie:

Biomarcador (unidades)	Media	Desviación típica
ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	0,49	0,12
PAI-1 (ng/ml)	49,4	42,1
Adiponectina ( $\mu\text{g/ml}$ )	12,2	8,59
rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	18,2	15,3
Resistina (ng/ml)	3,82	1,01
logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	0,41	0,24

Tabla 31. Niveles de biomarcadores en la población de estudio (N=87). Variables numéricas descritas como media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

A continuación se estudió la posible asociación de los **biomarcadores** con la **edad** (mediante un análisis de correlación lineal) y con el **sexo** (comparaciones mediante t-Student de muestras independientes) como se detalla en las tablas 32 y 33.

Se observaron diferencias significativas entre hombres y mujeres en los niveles de Adiponectina y ADMA. Por el contrario, no se alcanzó significación de ninguno de los biomarcadores con la edad.

	ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	PAI-1 (ng/ml)	Adiponectina ( $\mu\text{g/ml}$ )	Resistina (ng/ml)	rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )
<b>Edad (años)</b>						
r	0,186	-0,162	0,137	-0,139	0,132	0,095
p	0,086	0,137	0,205	0,206	0,224	0,383

Tabla 32. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson) de los biomarcadores con la edad (años). \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

	<b>ADMA</b> ( $\mu\text{M/L}$ )	<b>PAI-1</b> (ng/ml)	<b>Adiponectina</b> ( $\mu\text{g/ml}$ )	<b>Resistina</b> (ng/ml)	<b>rsTNF-<math>\alpha</math> 2</b> (ng/ml)	<b>logTBARS*</b> ( $\mu\text{M/L}$ )
<b>Sexo</b>						
*M	0,52(0,12)	48,3(49,1)	14,6(7,49)	3,91 (1,26)	19,7(18,0)	0,42(0,27)
**V	0,46(0,11)	50,1(37,3)	10,6(8,96)	3,76 (0,83)	17,2(13,3)	0,40(0,23)
p	0,010	0,852	0,036	0,543	0,457	0,664

Tabla 33. Diferencias en niveles de biomarcadores entre hombre y mujeres, comparaciones mediante t-Student para muestras independientes. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. Se objetivó significación estadística para las variables adiponectina y ADMA.

#### 4.4.1. Relación entre NAC en test basal y estrés oxidativo medido por TBARS

No se observó significación estadística entre los niveles de TBARS como biomarcador asociado a estrés oxidativo y la presencia de indicios de NACbasal global (límitrofe o establecida) medida por VFC en el dominio del tiempo y de la frecuencia.

<b>Biomarcadores</b>	<b>NACbasal</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	0,41 (0,24)	0,41 (0,24)	0,906

Tabla 34. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con TBARS como biomarcador de estrés oxidativo. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

Así mismo, se estudió si existía asociación lineal (correlación) entre medidas de VFC y niveles de TBARS en la población seleccionada. No se objetivaron datos de correlación estadísticamente significativa tras su estudio por el coeficiente de correlación de Pearson (r).

#### 4.4.2. Relación entre NAC en test basal y biomarcadores de disfunción endotelial (ADMA y PAI-1)

No se observó relación estadísticamente significativa con los resultados del test basal para los niveles de ADMA ni PAI-1 como se describe en la siguiente tabla.

<b>Biomarcadores</b>	<b>NACbasal</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
ADMA (µM/L)	0,51 (0,14)	0,48 (0,11)	0,231
PAI-1 (ng/ml)	57,4 (59,1)	45,6 (30,7)	0,327

*Tabla 35. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con los biomarcadores de disfunción endotelial. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

Se realizó además un estudio de asociación lineal, entre medidas de VFC y biomarcadores de disfunción endotelial sin que se encontrara correlación estadísticamente significativa.

#### **4.4.3. Relación entre NAC en test basal y adipoquinas (Adiponectina, TNF- $\alpha$ y resistina).**

Las adipoquinas no se relacionaron de forma estadísticamente significativa con la presencia de NACbasal global (límitrofe o establecida) medida por VFC en el dominio del tiempo y de la frecuencia (tabla 36). Hecho que se mantuvo en el análisis de correlación lineal.

<b>Biomarcadores</b>	<b>NACbasal</b>	<b>Normal</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
Adiponectina (µg/ml)	12,34 (11,40)	12,13 (7,00)	0,912
rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	15,12 (6,30)	19,61 (17,90)	0,202
Resistina (ng/ml)	4,33 (1,72)	3,92 (1,94)	0,329

*Tabla 36. Relación de hallazgos de NAC global, en test de reposo, con las adipoquinas. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica.*

#### **4.4.4. Relación entre NAC en test dinámicos y biomarcadores**

En la siguiente tabla se describe la relación entre todos los biomarcadores del estudio y la presencia de indicios de NACdinámico global (límitrofe o establecida) medida por VFC, Valsalva y bipedestación (RMSSDp, ratio Valsalva y ratio 30:15) respectivamente.

En la valoración de los test dinámicos y su relación con los biomarcadores del estudio tampoco se observó significación estadística. El más próximo a dicha significación fue el logTBARS.

Biomarcadores (unidades)	NACdinámico	Normal	Significación estadística (p)
ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	0,50 (0,15)	0,48 (0,10)	0,537
PAI-1 (ng/ml)	47,6 (38,8)	50,1 (43,5)	0,808
Adiponectina ( $\mu\text{g/ml}$ )	13,08 (12,08)	11,88 (7,04)	0,567
logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	0,37 (0,16)	0,42 (0,26)	0,342
rsTNF $\alpha - 2$ (ng/ml)	16,70 (9,15)	18,69 (16,97)	0,488
Resistina (ng/ml)	4,06 (1,15)	4,05 (2,08)	0,965

*Tabla 37. Relación de hallazgos de NAC global en test tras estímulo, con biomarcadores. Variables numéricas descritas mediante media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.*

En el estudio de asociación lineal, entre medidas de VFC tras estímulo y biomarcadores, tampoco se encontró correlación estadísticamente significativa.

Se realizó un **estudio comparativo por terciles**, según los niveles de TBARS y de acuerdo a los puntos de corte descritos en la tabla 38, de tal modo que se comparó el tercil inferior con el tercil superior de TBARS con cada uno de los parámetros de VFC de los test basal y dinámicos.

Se objetivó que los sujetos con niveles de logTBARS en el tercil superior tenían una VFC en los tres parámetros del test de reposo (RMSSDn, potencia en la banda de baja y alta frecuencia) menor que aquellos pacientes cuyos niveles de logTBARS estaban en el tercil inferior, alcanzando la significación estadística con RMSSDn ( $p=0,047$ ) y potencia en la banda de alta frecuencia ( $p=0,020$ ) y permaneciendo limítrofe la baja frecuencia ( $p=0,057$ ) (Tabla 41).

	Puntos de corte tercil inferior	Puntos de corte tercil superior
logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	$\leq 0,285$	$> 0,454$

Tabla 38. Puntos de corte para la distribución por terciles de los niveles de logTBARS. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

	Tercil inferior de logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	Tercil superior de logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	Significación estadística (p)
<b>Test basal</b>			
RMSSDn (ms)	32,3 (22,8)	22,3 (14,9)	0,047
Potencia en banda LF ( $\text{ms}^2$ )	394,9 (507,1)	205,28 (135,9)	0,057
Potencia en banda HF ( $\text{ms}^2$ )	357,9 (451,2)	139,9 (140,3)	0,020
<b>Test dinámicos</b>			
RMSSDp (ms)	38,8 (26,6)	32,7 (24,0)	0,369
Ratio Valsalva	1,69 (0,36)	1,63 (0,31)	0,504
Ratio 30:15	1,30 (0,18)	1,25 (0,137)	0,282

Tabla 39. Relación entre la pertenencia al tercil inferior o superior del log TBARS y las variables de medida de VFC en los test basal y dinámicos. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Se objetivó significación estadística para las variables RMSSDn y potencia en la banda HF.

Tras los resultados significativos observados con la variable TBARS y los parámetros del test basal, se realizó el **análisis por modelo de regresión múltiple** para estudiar dicha asociación evaluando edad y sexo (Tablas 40 y 41) y se constata una relación entre RMSSDn y la potencia en la banda de la alta frecuencia y la pertenencia al tercil superior o inferior de logTBARS independiente de la edad y el sexo.

<b>Variable dependiente</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>p modelo</b>
RMSSDn	0,082	0,203
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>		
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Tercil superior vs inferior	-5,11	0,052
Edad (años)	-0,1	0,710
Sexo: mujer	-4.5	0,402

*Tabla 40. Evaluación del efecto de edad y sexo en la relación entre RMSSDn y tercil inferior/superior de logTBARS. Límite para la significación estadística independientemente de edad y sexo.*

<b>Variable dependiente</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>p modelo</b>
Potencia en la banda de HF	0,111	0,097
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>		
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
Tercil superior vs inferior logTBARS*	-109,4	0,017
Edad	-2,7	0,456
Sexo: mujer	-13,4	0,885

*Tabla 41. Evaluación del efecto de edad y sexo en la relación entre la potencia en la banda de HF y Tercil inferior/superior de logTBARS. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Significación estadística independientemente de edad y sexo.*

A continuación se realizó un estudio de correlación entre estrés oxidativo medido por logTBARS y el resto de biomarcadores de disfunción endotelial e inflamación (Tabla 42).



	logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	
	r	p
ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	0,200	0,064
PAI-1 (ng/ml)	0,119	0,276
Adiponectina ( $\mu\text{g/ml}$ )	-0,164	0,128
rs TNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	0,383	<0.001
Resistina (ng/ml)	-0,140	0,202

Tabla 42. Correlación lineal (coeficiente de correlación de Pearson, r) entre estrés oxidativo medido por logTBARS y biomarcadores. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Significación estadística para rsTNF- $\alpha$  2 y límite para ADMA.

Tras analizar los resultados se seleccionó el ADMA de entre los marcadores de disfunción endotelial, ya que fue el que mostró una mayor correlación con el estrés oxidativo medido por log TBARS.

Se dividió a la población por terciles según los valores del ADMA con los puntos de corte que se detallan en la siguiente tabla:

	Puntos de corte tercil inferior	Puntos de corte tercil superior
ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	$\leq 0,424$	$> 0,513$

Tabla 43. Puntos de corte por terciles para los niveles de ADMA.

Con el fin de estratificar a nuestra población según sus niveles de estrés oxidativo y disfunción endotelial de manera conjunta, se establecieron tres diferentes categorías de daño (bajo - medio - alto) en función de los terciles previamente definidos de logTBARS y ADMA (tabla 44).

	Tercil inferior de ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	Tercil medio de ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )	Tercil superior de ADMA ( $\mu\text{M/L}$ )
Tercil inferior de logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	bajo	bajo	medio
Tercil medio de logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	bajo	medio	alto
Tercil superior de logTBARS* ( $\mu\text{M/L}$ )	medio	alto	alto

Tabla 44. Estratificación de daño (estrés oxidativo+disfunción endotelial) de acuerdo a la pertenencia a los terciles de logTBARS y ADMA. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

A continuación se compararon los valores de las variables de NAC en los test basal y dinámicos entre los sujetos en la zona establecida como de daño bajo vs los de daño alto (tabla 45).

Se observó una tendencia a la significación estadística en las diferencias entre los tests basales, no así en los test dinámicos. No hubo diferencias estadísticamente significativas en la edad de cada uno de los grupos.

	Categoría de daño de la asociación logTBARS* y ADMA		Significación estadística (p)
	Daño alto	Daño bajo	
<b>Test basal</b>			
RMSSDn (ms)	23,0 (16,2)	30,4 (21,9)	0,145
Potencia en banda LF (ms <sup>2</sup> )	185,6 (174,9)	333,6 (402,9)	0,069
Potencia en banda HF (ms <sup>2</sup> )	157,0 (187,0)	298,0 (413,7)	0,093
<b>Test dinámicos</b>			
RMSSDp (ms)	32,4 (22,8)	40,5 (27,8)	0,225
Ratio Valsalva	1,69 (0,33)	1,69 (0,35)	0,964
Ratio 30:15	1,27 (1,17)	1,31 (0,16)	0,421

*Tabla 45. Correlación entre los parámetros de medida de VFC en los test basal y dinámicos y la categoría de daño alto o bajo para la asociación logTBARS y ADMA arriba definida. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Límitrofe para la significación estadística los parámetros del test basal, principalmente la potencia en la banda de baja frecuencia.*

Se repitió el mismo procedimiento de estratificación de riesgo para el estudio de asociación con logTBARS y rsTNF- $\alpha$  2 (tabla 47) dado que en el estudio de la correlación lineal citado previamente, alcanzó la significación estadística.

Se dividió a la población por terciles según los valores del rsTNF- $\alpha$ 2 con los puntos de corte que se detallan en la siguiente tabla:

	Puntos de corte tercil inferior	Puntos de corte tercil superior
rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	$\leq 11,602$	$> 17,518$

Tabla 46. Puntos de corte por terciles para los niveles de rsTNF- $\alpha$  2.

	Tercil inferior de rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	Tercil medio de rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	Tercil superior de rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)
Tercil inferior de logTBARS* ( $\mu$ M/L)	bajo	bajo	medio
Tercil medio de logTBARS* ( $\mu$ M/L)	bajo	medio	alto
Tercil superior de logTBARS* ( $\mu$ M/L)	medio	alto	alto

Tabla 47. Estratificación de daño (estrés oxidativo + disfunción endotelial) de acuerdo a la pertenencia a los terciles de logTBARS y rsTNF- $\alpha$  2. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

A continuación se compararon los valores de las variables de NAC en los test basal y dinámicos entre los sujetos en la zona establecida como de daño bajo vs los de alto (tabla 48).

Al estratificar el daño por TBARS y rsTNF- $\alpha$  2 únicamente la potencia en la banda de alta frecuencia mostró una tendencia a la asociación. En cuanto a la edad de cada uno de los grupos de daño, no hubo diferencias estadísticamente significativas.

	Categoría de daño de la asociación logTBARS* y rsTNF- $\alpha$ 2		
	Daño alto	Daño bajo	Significación estadística (p)
<b>Test basal</b>			
RMSSDn (ms)	22,3 (15,5)	26,0 (17,8)	0,380
Potencia en banda LF (ms <sup>2</sup> )	233,4 (320,7)	274,6 (364,5)	0,638
Potencia en banda HF (ms <sup>2</sup> )	136,1 (142,1)	219,6 (264,4)	0,117
<b>Test dinámicos</b>			
RMSSDp (ms)	33,6 (24,0)	31,7 (19,4)	0,733
Ratio Valsalva	1,66 (0,32)	1,73 (0,37)	0,389
Ratio 30:15	1,25 (1,15)	1,29 (0,18)	0,415

Tabla 48. Correlación entre los parámetros de medida de VFC en los test basal y dinámicos y la categoría de daño alto o bajo para la asociación logTBARS y rsTNF- $\alpha$  2 arriba definida. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Límite para la significación estadística los parámetros del test basal, principalmente la potencia en la banda de baja frecuencia.

#### 4.5. EVALUACIÓN DE LA ASOCIACIÓN DE LA PCR-us CON LOS TEST NEUROLÓGICOS, HEMODINÁMICOS Y BIOMARCADORES

Con el fin de analizar el potencial valor y fiabilidad de la PCR como marcador inflamatorio en el escenario cardiometabólico propuesto, se evaluó su asociación con las principales variables del estudio. La asociación entre los niveles de PCR-us y la disfunción autonómica, que resultó significativa en el caso del test basal, ya quedó descrita en apartados anteriores (ver págs. 53 y 56).

Para valorar la asociación con las variables edad y sexo se realizaron los siguientes análisis: en primer lugar se evaluó la correlación lineal con la **edad** (coeficiente de correlación de Pearson), sin objetivarse asociación significativa con los niveles de PCR-us en nuestra población (tabla 49), en segundo lugar se analizó la diferencia por sexo,

los niveles de PCR-us fueron más elevados en mujeres de forma limítrofe para la significación estadística (tabla 50).

	PCR-us (mg/L)
<b>Edad (años)</b>	
r	-0,04
p	0,974

Tabla 49. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y la edad (en años). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística.

	PCR-us (mg/L)
<b>Sexo</b>	
M*	2,73 (2,83)
V**	1,78 (1,19)
P	0,072

Tabla 50. Asociación entre los niveles de PCR-us, en mg/L y el sexo. M\*: mujeres, V\*\*: varones. p: significación estadística. PCR-us: variable numérica descrita como media y desviación típica.

Respecto de la relación entre los niveles de PCR-us y los biomarcadores de mayor relevancia en nuestro estudio, se realizó un análisis de correlación lineal entre los niveles de PCR-us de la población y los niveles de rsTNF- $\alpha$  2 como biomarcador de inflamación, ADMA (como biomarcador de disfunción endotelial) y logTBARS como marcador de estrés oxidativo. No se objetivó significación estadística con ninguno de ellos (tabla 51).

	ADMA ( $\mu$ M/L)	rsTNF- $\alpha$ 2 (ng/ml)	logTBAR* ( $\mu$ M/L)
<b>PCR-us (mg/L)</b>			
r	0,039	-0,077	0,026
p	0,721	0,479	0,811

Tabla 51. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y los biomarcadores de disfunción endotelial, inflamación y estrés oxidativo. r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.

Se amplió el estudio de asociación entre los niveles de PCR con el estrés oxidativo medido por logTBARS, de acuerdo a la división de la población en terciles según los niveles de dicho biomarcador. Se compararon los niveles de PCR-us en los pacientes del tercil superior vs los del tercil inferior sin que se objetivara relación estadísticamente significativa (tabla 52).

	<b>Tercil inferior de logTBARS* (<math>\mu\text{M/L}</math>)</b>	<b>Tercil superior de logTBARS* (<math>\mu\text{M/L}</math>)</b>	<b>Significación estadística (p)</b>
<b>PCR-us (mg/L)</b>	2,01 (1,70)	2,27(1,88)	0,588

*Tabla 52. Relación entre la pertenencia al tercil inferior o superior del log TBARS, en  $\mu\text{M/L}$  y los niveles de PCR-us, en mg/L. Variables numéricas descritas como media y desviación típica. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma.*

Por último, se evaluó la relación entre los niveles de PCR-us y la rigidez arterial evaluada de forma no invasiva por análisis de onda de pulso mediante IAx-75, como la variable de rigidez arterial detectada con mayor asociación en nuestro estudio. Tras realizar el estudio de correlación lineal entre los niveles de PCR-us de los pacientes y el índice de aumento corregido a 75 lpm, no se observó significación estadística (tabla 53).

	<b>PCR-us (mg/L)</b>
<b>IAx-75 (%)</b>	
r	0,051
p	0,656

*Tabla 53. Correlación lineal entre los niveles de PCR-us, en mg/L y la rigidez arterial medida por IAx-75 (%). r: Coeficiente de correlación de Pearson. p: significación estadística.*

#### **4.6. ANALISIS MULTIVARIANTE DE LA ASOCIACIÓN ENTRE NAC Y LOS FACTORES ESTUDIADOS**

Por último, se estudió la relación entre la VFC en reposo medida por la potencia en la banda de HF (por ser ésta la variable de mayor significación en el test basal en mi estudio) con el modelo de regresión lineal múltiple explicativo en el que la edad y el sexo fueron covariables fijas y en el q se incluyeron como variables independientes logTBARS, IAx-75, diabetes e hipertensión arterial. Así mismo se utilizó el método

“backwards” para obtener un modelo final utilizando como punto de corte 0,200 como significación, debido a la limitación del tamaño muestral.

Tras el análisis de los datos, se observó que logTBARS y IAx-75 fueron las variables que presentaron una asociación más significativa con la VFC medida por el parámetro de la potencia en la banda HF de manera independiente del resto de variables. Es decir, la relación entre NAC en test basal (medido por potencia en banda HF), logTBARS y rigidez arterial (medida por IAx-75) es independiente del sexo y la edad (tabla 54).

<b>Variable dependiente</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>p modelo</b>
Potencia en la banda HF (ms <sup>2</sup> )	0,108	0,073
<b>Variables independientes</b>		
	<b>β no estandarizada</b>	<b>p</b>
logTBAR*S (μM/L)	-228,4	0,115
IAx-75 (%)	-5,79	0,170
Edad (años)	-2,13	0,543
Sexo	-9,89	0,897

*Tabla 54. Correlación multivariante (β no estandarizada): relación entre la potencia en la banda de alta frecuencia (en ms<sup>2</sup>), los niveles de logTBARS y la rigidez arterial medida por IAx-75, en %, ajustado por edad y sexo. \* Logaritmo de TBARS, variable transformada mediante logaritmo en base 10 para conseguir una distribución normal de la misma. Tendencia a la asociación con logTBARS y IAx-75.*

El mismo análisis de correlación multivariante descrito anteriormente, se aplicó al ratio 30:15 como medida de mayor significación de los test dinámicos (tabla 55) y se observó que la presencia de diabetes, la edad y el sexo fueron las tres variables que se asociaron de manera más significativa a la VFC medida por ratio 30:15 de manera independiente del logTBARS y la rigidez arterial.

<b>Variable dependiente</b>	<b>r<sup>2</sup></b>	<b>p modelo</b>
30:15	0,371	<0,001
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>		
<b>VARIABLES INDEPENDIENTES</b>	<b>β no estandarizada</b>	<b>P</b>
Edad (años)	-0,006	<0,001
Diabetes	-0,058	0,087
Sexo	-0,067	0,031

*Tabla 55. Correlación multivariante (β no estandarizada): relación entre el ratio 30:15 y la presencia o no de diabetes ajustado por edad y sexo. Estadísticamente significativo para edad y sexo, límite para diabetes.*



# 5. DISCUSIÓN

---

## 5. DISCUSIÓN

A pesar de los avances farmacológicos y de las modernas tecnologías, la enfermedad cardiovascular sigue siendo en el mundo occidental la principal causa de mortalidad fundamentalmente por el incremento incesante de la obesidad y sus asociados, siendo la hiperglucemia su principal aliado patogénico seguido de la hipertensión arterial. Por otra parte, la sociedad nos pide no solo la prevención del temible evento sino también predicción y es un axioma de la moderna Medicina Cardiometabólica que no hay predicción sin precisión. Además, es manifiesta la insatisfacción de los médicos que trabajamos en el riesgo cardiovascular porque somos conscientes de que las escalas de riesgo son altamente imprecisas para casos individuales y que deberían desarrollarse nuevas técnicas, hemodinámicas no invasivas y/o biomarcadores, para mejorar su precisión de forma que permitiera aplicar sencillos algoritmos que nos posibilitaran revertir esta velocidad de crecimiento. Si a todo ello sumamos el gran desconocimiento que hay en torno a todo lo relacionado con el Sistema Nervioso Autónomo que por estar distribuido por cada órgano y tejido (52) pertenece a todos y ningún especialista en concreto, de forma que la Neurología hace tiempo que dejó de tenerlo entre sus principales focos de interés (como la enfermedad cerebrovascular en sentido estricto, Alzheimer, Parkinson, Esclerosis múltiple, ...) y del resto de las especialidades médicas que podrían tener interés especial en ella, solo la Endocrinología en la década de los 80 mostró cierta inquietud en este tema por la coexistencia de investigadores como Faerman, Ewing y Watkins que fueron citados en la introducción y cuyos trabajos constituyen verdaderos hitos en la fisiopatología de la disfunción autonómica y demostraron que tenía implicaciones cardiovasculares al menos en la población diabética, de gran importancia pronóstica.

Tras más de 30 años de silencio, y teniendo en cuenta que formamos parte de una Unidad innovadora con una visión diferente de la enfermedad aterotrombótica por abordarla en sus fases más precoces, con el presente trabajo rescatamos del olvido tan interesante campo de investigación y ponemos nuestros hallazgos al conocimiento de la comunidad científica con el deseo de que nuestros resultados despierten la

inquietud de otros equipos y entre todos ayudemos a esclarecer de una vez para siempre, sin más temporadas de silencio, su responsabilidad en la mortalidad y perdamos el miedo a llevar este apasionante campo a la cabecera del enfermo.

El presente estudio ha permitido recoger datos de disfunción autonómica en una población con un amplio espectro de riesgo cardiovascular y no exclusivamente en sujetos diabéticos, para estudiar su asociación con la edad, la rigidez arterial, la disfunción endotelial y el estrés oxidativo como entidades interrelacionadas. La disfunción autonómica es un trastorno con gran variabilidad en su prevalencia debido entre otros factores, como la heterogeneidad de la población de estudio, a la falta de estandarización de los test existentes, pero tal y como se ha observado en diferentes publicaciones (19, 20) y como preconizan las asociaciones científicas como la Asociación Americana de Diabetes desde hace años (74), la búsqueda activa de la enfermedad incrementa el diagnóstico de disfunción autonómica encubierta en un porcentaje destacable. En este sentido, nuestro estudio ratifica esta afirmación ya que se observó un incremento en la detección de datos de disfunción autonómica a medida que se analizaban los distintos métodos de valoración de la VFC tanto en los test basales (de reposo) como en los test dinámicos (tras estímulo). La prevalencia global de este trastorno en nuestra población, suma de casos de VFC reducida en los distintos parámetros, bien sólo en uno de ellos (disfunción autonómica límite) o en dos o más (disfunción establecida), fue de un 32,2 a un 26,4% en los test basal y dinámicos respectivamente. Los citados porcentajes son algo más bajos, tal y como se suponía, a algunas de las grandes series descritas en la literatura (190-192), debido a que los sujetos seleccionados en este estudio englobaban población diabética (población donde se ha estudiado principalmente la presencia de disfunción autonómica) y no diabética.

El estudio en el test basal en el dominio del tiempo de acuerdo al Índice vagal, permitió identificar un 3,4 % de sujetos con datos de disfunción y tras ampliar el estudio con la valoración de otros dos parámetros de VFC en el dominio de la frecuencia (la potencia en la banda de alta y baja frecuencia) el porcentaje aumentó en un 28%. Lo mismo sucede en el caso de los test dinámicos, la prevalencia por tipo de prueba fue de un 4,6

a un 17,2%, siendo la más baja la correspondiente a la detección por RMSSD en respiración profunda como cabe esperar dado que es el test de más específico pero no el de mayor sensibilidad (73). Respecto del ratio Valsalva y su valor adicional a la batería de test diagnósticas, destacar que de entre los sujetos con hallazgos de disfunción autonómica por este parámetro (17,2%), cerca de la mitad no habían sido detectados en las pruebas previas de respiración normal y profunda. En cuanto a la maniobra de bipedestación, el ratio 30:15 identificó un 11,5% de sujetos con valores indicativos de disfunción autonómica y permitió revelar 3 nuevos sujetos que no habían sido detectados anteriormente.

Desde el punto de vista clínico destacar la importancia del despistaje activo de la enfermedad en población general debido a la sintomatología, habitualmente de carácter insidioso y a la presencia de casos subclínicos. En nuestra serie, se detectaron de un 5 a un 10% de los sujetos (en los test basal y dinámicos respectivamente) con criterios compatibles con datos de disfunción autonómica en las pruebas. En cuanto a los casos limítrofes, se detectaron cerca de un 22% de pacientes independientemente del tipo de test, hecho que constata la ineficacia de la historia clínica y la exploración física para la detección precoz de este trastorno y la gran trascendencia de poder disponer de métodos no invasivos específicos para detectar los estadios iniciales de la enfermedad, ya que es en estas fases precoces donde el proceso tiene todavía un carácter reversible (Boulton, 2005) (76).

Por otra parte, en cuanto a las características de la población estudiada y su relación con la disfunción autonómica no hubo diferencias significativas en la edad de los grupos, de media en torno a los 55 años, hecho que podría esperarse debido a la utilización de puntos de corte ajustados por edad de acuerdo a los estudios publicados en 2001 por Agelink (189) y Risk (78) para el análisis de la VFC por cada uno de los parámetros de las pruebas de reposo y tras estímulo. Sí hubo asociación estadísticamente significativa con el sexo en los test dinámicos (límitrofe el basal), de manera que las mujeres fueron predominantes en el grupo con disfunción autonómica si bien aunque existen distintos estudios acerca de las diferencias por género en esta entidad, no hay datos suficientemente consistentes a este respecto (193-195).

En cuanto a las características antropométricas no se objetivó significación estadística con los niveles de IMC, resultado consistente con los objetivados en otros estudios anteriormente publicados como los de Lacigova et al en 2007 (196) y Chen et al en 2008 (197). Respecto de la evaluación hemodinámica se objetivó significación estadística de la presencia de disfunción autonómica por cualquiera de los test con la frecuencia cardíaca, siendo más elevada (como era de esperar, ya que la taquicardia de reposo es una de las características de la disfunción autonómica) en el grupo con pruebas positivas mientras que el resto de parámetros hemodinámicos no presentaron ninguna correlación. La presión arterial se encontraba en rango de prehipertensión, sin objetivarse datos de significación estadística con el hallazgo de disfunción autonómica, hecho que difiere de los resultados de otros estudios acerca de la presión arterial sistólica elevada, que se establece como factor de riesgo independiente de la presencia de disfunción autonómica (estudio EURODIAB) (67), así como de que un adecuado control de la hipertensión arterial se relaciona con una reducción del riesgo de progresión de disfunción autonómica en el paciente diabético tipo 2 (estudio Steno-2) (198).

Respecto de la patología previa de la población de estudio y su correlación con la disfunción autonómica, la diabetes presenta una tendencia a la asociación en el test basal (46,4% de sujetos diabéticos en el grupo con datos de disfunción autonómica vs 28,8% en el grupo normal), y permanece también en mayor porcentaje en el grupo con menor VFC de los test dinámicos, si bien no llega a alcanzar la significación estadística tal y como sería esperable. Sí alcanza la significación estadística el diagnóstico de enfermedad coronaria en los test dinámicos, si bien tanto en el caso de la diabetes, como en el de la enfermedad coronaria, el número de pacientes limitado, muy especialmente en el grupo de sujetos con coronariopatía, obliga a contrastar estos resultados con estudios más amplios. Por otra parte, la prediabetes se asoció a disfunción autonómica de manera significativa en el análisis estratificado del test basal ( $p=0,008$ ), hecho no previamente conocido hasta la actualidad pero que de confirmarse en futuros estudios constituiría un aliciente más para promover el diagnóstico precoz.

Desde el punto de vista metabólico y en probable relación con lo expuesto anteriormente, se demostró significación estadística con los niveles de A1C, que fue de casi medio punto más baja en ausencia de disfunción autonómica tanto en reposo como en los test dinámicos. Los niveles de glucemia muestran esta misma tendencia aunque permanecen en niveles limítrofes de significación estadística. Esto concuerda con datos de otros estudios como el publicado por Ticse Aguirre en 2007 (19), en el que se estudia la presencia de disfunción autonómica en diabéticos mediante la VFC, tras maniobra de Valsalva y de hipotensión ortostática; así como con los datos del metaanálisis publicado por Dafaalla en 2016 (199), en el que revisan múltiples factores de riesgo asociados a disfunción autonómica, y con los resultados del estudio EURODIAB reportados por Witte en 2005 (67), en el que A1C aparece como uno de los factores de riesgo independientes para la aparición de disfunción autonómica. Por otra parte, y al igual que en las citadas publicaciones, no se objetivaron diferencias significativas en los niveles de colesterol total, LDL ni HDL.

Respecto de la evaluación de la rigidez arterial como indicador de disfunción endotelial y su correlación con la disfunción autonómica, a pesar de que no se objetivaron datos estadísticamente significativos con la medida directa (Velocidad de onda de pulso) ni con la medida indirecta (Índice de aumento corregido a 75 lpm) sí resultan interesantes los hallazgos del análisis de correlación lineal. En éste análisis se muestra una correlación lineal negativa, es decir a mayor rigidez arterial menor VFC, estadísticamente significativa entre el índice de aumento corregido a 75 lpm y el índice vagal en respiración normal, la potencia en la banda de baja, alta frecuencia y el ratio 30:15; con una p de 0,042; 0,013; 0,016 y <0,001 respectivamente.

El índice vagal en el test de respiración profunda aparece limítrofe ( $p=0,052$ ), hecho que pudiera estar en relación con ser el test más específico y más restrictivo en ese aspecto en cuanto a detección de alteración, por lo que sería interesante constatar si se hace evidente o no la significación con una muestra poblacional mayor. El ratio Valsalva fue el único de los parámetros de estudio que no mostró tendencia a la asociación lo que podría estar justificado por ser una maniobra relacionada principalmente con la alteración del componente simpático y generalmente reflejo de

un grado más avanzado de disfunción autonómica, es decir, se precisa un mayor deterioro del sistema autonómico para que se haga patente su afectación, hecho menos esperable en nuestra población, dado que se trata de población no exclusivamente diabética, lo que haría suponer que presenten (tal y como se ha observado en el análisis inicial de prevalencia de nuestra serie) datos de disfunción autonómica limítrofe (estadíos precoces) de manera mayoritaria frente a los sujetos con disfunción establecida.

Tras realizar un análisis de correlación multivariante, para incluir el efecto de la edad y el sexo del paciente en la relación entre IAx-75 y las distintas variables de medida de la VFC tanto en reposo como tras estímulo, se observó una pérdida de la significación estadística con el índice vagal en patrón de respiración normal, con la potencia en la banda de baja y alta frecuencia y con el ratio 30:15. El ratio Valsalva continuó siendo no significativo, y la relación IAx-75 y el índice vagal en patrón de respiración profunda, que permanecía limítrofe en la correlación univariante, apareció como no significativo. Por tanto, no solo la edad, también el sexo, explican la relación entre las variables que se habían objetivado como significativas en el análisis univariante. En el caso de la rigidez o envejecimiento arterial es un hecho conocido que de todos sus factores determinantes, la edad ocupa un papel preferente seguido de la presión arterial y el incremento de dicha rigidez es el resultado de una serie de cambios estructurales y funcionales, que ocurren en la pared de los vasos como resultado fundamentalmente del proceso de envejecimiento vascular (95, 96). Así mismo sucede en el caso de la disfunción autonómica, en el que el impacto de la edad hace obligada la corrección por dicho factor para su evaluación, se trata del proceso denominado de senescencia o envejecimiento celular común a todo el organismo pero vital en el caso del sistema nervioso, ya que la neurona no puede ser recambiada.

En cuanto a la relación de la disfunción autonómica con el estrés oxidativo medido por biomarcadores, existen distintas publicaciones que la avalan, como se ha comentado en la introducción, tanto a nivel experimental como en humanos. Las especies reactivas de oxígeno (ROS) son sustancias de elevada toxicidad y detonantes de una serie de acciones en cadena que pueden acabar con la vida de la célula cuando los

mecanismos antioxidantes son insuficientes. De acuerdo a los resultados de los estudios experimentales y clínicos se ha observado que el estrés oxidativo es responsable de la rápida inactivación del NO, de los efectos perjudiciales sobre la vasodilatación dependiente de endotelio y de una mayor sensibilidad del mismo a la vasoconstricción. Este deterioro en la biodisponibilidad del NO y la participan de las ROS en el daño de la pared vascular agrediendo al endotelio, haciéndolo disfuncionar y favoreciendo un estatus proinflamatorio que colabora a perpetuar el proceso aterosclerótico, hace que la culminación de este estatus deletéreo pueda ser la presentación de un evento cardiovascular (John y Carrillo et al. 2000 y 2004) (200, 201).

En nuestro estudio no se objetivó asociación estadísticamente significativa entre los grupos con datos de disfunción autonómica y el estrés oxidativo probablemente debido al pequeño tamaño muestral, como una de las principales limitaciones del estudio, si bien tras el análisis comparativo tras dividir la población en terciles de acuerdo a los niveles de logTBARS (tercil superior vs inferior) se observaron diferencias significativas en dos de los parámetros del test basal. Los sujetos con niveles de logTBARS en el tercil superior tenían una VFC menor en los tres parámetros del test de reposo (RMSSD, potencia en la banda de baja y alta frecuencia) que aquellos pacientes cuyos niveles de logTBARS estaban en el tercil inferior. Se alcanzó la significación estadística con RMSSDn ( $p=0,047$ ) y con la potencia en la banda de alta frecuencia ( $p=0,020$ ). La potencia en la banda de baja frecuencia permaneció limítrofe ( $p=0,057$ ). Varios estudios en modelos experimentales, ya hablan de la asociación entre los niveles de TBARS como marcador de estrés oxidativo y la presencia de disfunción autonómica en los test basales y en estudios en humanos destaca el publicado por Thiyagarajan R et al. en 2012 (147), donde ya se hacía referencia a la asociación entre estrés oxidativo medido por TBARS y la presencia de disfunción autonómica cardíaca, si bien en este caso se analizaron test dinámicos (respiración profunda y ortostatismo). Nuestro trabajo aporta en este sentido una visión más completa del espectro de la disfunción autonómica respecto de lo publicado hasta la fecha en cuanto a datos de los parámetros de medida de la VFC en test basal y dinámicos y su correlación con estrés oxidativo medido por logTBARS. La asociación en el análisis por terciles de los niveles



de logTBARS y la VFC medida por índice vagal en respiración normal y la potencia en la banda de la alta frecuencia se mantuvo independiente de la edad y el sexo en el análisis por modelo de regresión múltiple.

Por otra parte, y debido a que disfunción endotelial y el estrés oxidativo son procesos interrelacionados y que se potencian mutuamente, se decidió realizar una evaluación conjunta de ambos y de su asociación con la presencia o no de disfunción autonómica. Para ello se estratificó a la población en tres categorías de “daño” (entendido como estatus de disfunción endotelial y estrés oxidativo) bajo, medio y alto según la pertenencia a los distintos terciles (superior o inferior) de logTBARS y ADMA. Se observó una tendencia a la significación estadística, no explicable por la edad, en las diferencias de los niveles de los parámetros del test basal, no así en los dinámicos. La correlación de los niveles de ADMA con la disfunción endotelial y la neuropatía autonómica cardíaca también fue analizada. En 2012 Akyel A. et al. (202) en un estudio de 100 pacientes diabéticos observó niveles plasmáticos elevados de ADMA y VFC reducida en los pacientes diabéticos, como indicadores de la presencia conjunta de NAC y disfunción endotelial.

El mismo análisis estratificado de “daño” se realizó en función de la pertenencia a los terciles (superior e inferior) de logTBARS y rsTNF- $\alpha$  2. Se seleccionó este biomarcador de entre los estudiados de inflamación ya que presentó una asociación estadísticamente significativa con los niveles de logTBARS. Tras el análisis de correlación lineal se observó una asociación entre ambos biomarcadores muy significativa con una  $p < 0,001$ . De esta forma podemos confirmar que en un escenario cardiometabólico la metainflamación de origen abdominal tiene mucho que decir en el estrés oxidativo acompañante pero no participa tan directamente en la disfunción autonómica como el estrés oxidativo relacionado directamente con la disfunción endotelial medida por el ADMA. Al estratificar el daño por TBARS y rsTNF- $\alpha$  2, únicamente la potencia en la banda de alta frecuencia mostró una tendencia a la asociación. Esta asociación entre adipoquinas y disfunción autonómica se está propendiendo en los últimos años como objeto frecuente de estudio. En 2012 Jung Ch et al. (203), estudiaron la presencia de disfunción autonómica medida por VFC en el

dominio del tiempo y de la frecuencia en un total de 142 diabéticos tipo 2 a los que se midieron niveles de TNF- $\alpha$  y adiponectina. Se observó una correlación inversa significativa entre los niveles de TNF- $\alpha$  y el índice vagal y una asociación del aumento de riesgo de disfunción autonómica cardíaca con niveles elevados de adiponectina. Posteriormente en 2013, Nikolic VN et al. (204) sugieren la existencia de una correlación inversa entre los niveles de TNF- $\alpha$  y la disfunción autonómica de acuerdo a los datos obtenidos en un grupo de pacientes con diagnóstico de insuficiencia cardíaca, si bien se trata de un estudio de casos-controles de pequeño tamaño muestral, lo que hace necesario profundizar en dichos hallazgos.

Respecto de la evaluación de la PCR-us como otro de los biomarcadores de inflamación y su relación con la disfunción autonómica, únicamente se observa asociación estadísticamente significativa en el test basal. Su relación con el sexo, en el límite de la significación, podría explicar algunos de los hallazgos encontrados previamente en relación con el género si bien se trata de un marcador altamente inespecífico, lo que impide extraer conclusiones adicionales. Tampoco se observó correlación con el resto de biomarcadores, lo que orienta a pensar que sus potenciales implicaciones patogénicas sean bajas en cuanto a la disfunción autonómica se refiere.

A continuación, se realizó un análisis de correlación multivariante para la VFC en reposo y tras estímulo. En el grupo de test de reposo se evaluó la VFC medida por la potencia en la banda de HF (por ser ésta la variable de mayor significación en el test basal en nuestro estudio) y con los niveles de logTBARS, IAx-75, diabetes e hipertensión arterial para analizar la influencia en dicha relación de la edad y el sexo. Se observó que la relación entre disfunción autonómica en test basal (medido por potencia en banda HF), logTBARS y rigidez arterial (medida por IAx-75) fue independiente del sexo y la edad. En el grupo de test dinámicos se evaluó el ratio 30:15, como medida de mayor significación de los test dinámicos y se observó que la presencia de diabetes, la edad y el sexo fueron las 3 variables que se asociaron de manera significativa a la VFC medida por ratio 30:15 de manera independiente del log TBARS y la rigidez arterial.

Tras el análisis conjunto de todas las variables, podemos inferir que la rigidez arterial, la disfunción endotelial y la disfunción autonómica constituyen la triada esencial que explicaría que el “factor edad” sea el de mayor impacto cardiovascular de todos los conocidos, tal y como se ha puesto de manifiesto en las distintas escalas de valoración del riesgo cardiovascular clásicas como Framingham, Score Project, PROCAM o novedosas como los modelos Archimedes, Reynolds o la última calculadora de riesgo de la ATP-IV. Sin embargo, el presente trabajo aporta una nueva visión de este conocido factor, poniendo de manifiesto la existencia de una interacción entre sí de los citados componentes del ámbito cardiometabólico (rigidez arterial, disfunción endotelial y disfunción autonómica) además de cada uno de ellos con la disfunción autonómica que es independiente de la edad.

### **Limitaciones del estudio**

La principal limitación del estudio deriva de su tamaño muestral reducido que conlleva una pérdida de potencia en los contrastes de hipótesis realizados y por tanto una menor capacidad para detectar las posibles diferencias significativas en las variables que quedaron al límite de la significación o que mostraron una tendencia a la asociación.

En cuanto al diseño del estudio, presenta las limitaciones propias de un estudio transversal, limitándonos al análisis de las exploraciones que se habían realizado así como a los datos clínicos recogidos en la historia del paciente.

Respecto de las pruebas de rigidez arterial y disfunción autonómica, se trata de pruebas no invasivas y dependiente de operador en el caso de la rigidez arterial, si bien este efecto “operador dependiente” quedaría minimizado al estar todas las pruebas realizadas por una sola persona entrenada en dicho procedimiento.

Por todo ello y dado que se trata de un estudio de investigación, es necesario profundizar en los resultados obtenidos con estudios clínicos prospectivos y aleatorizados en una muestra poblacional mayor.

# 6. CONCLUSIONES

---

## 6. CONCLUSIONES

Las principales conclusiones de nuestro estudio son las que se enumeran seguidamente:

1. La prevalencia de disfunción autonómica en nuestro estudio, evaluada por la variabilidad de la frecuencia cardíaca (VFC) en reposo fue de un 32,2%, de los que alrededor de dos tercios presentaron datos limítrofes de neuropatía, y solo un tercio de los pacientes datos de neuropatía establecida.
2. La prevalencia de disfunción autonómica en nuestra población, detectada por VFC en los test dinámicos fue de un 26,4%. La maniobra de Valsalva, mediante el ratio Valsalva, fue la que detectó un número más elevado de pacientes con disfunción (un 17,2%), seguida de la maniobra de bipedestación, a través del ratio 30:15 (11,5%) y en un porcentaje mucho menor (4,6%) el test de respiración profunda medido por el índice vagal en dicho patrón de respiración.
3. La prevalencia global de la disfunción autonómica en nuestra población fue algo más baja que algunas de las descritas en las grandes series de la literatura, probablemente debido a que los sujetos seleccionados en este estudio englobaban pacientes diabéticos (población donde se ha estudiado principalmente la presencia de disfunción autonómica) pero también población no diabética.
4. Cerca de la mitad de los sujetos identificados con datos de neuropatía en el test dinámico de la maniobra de Valsalva no habían presentado alteración en ninguno de los tres parámetros del análisis de VFC de los test de reposo así como tampoco en el test dinámico de respiración profunda. Lo que apoya la afirmación de que la búsqueda activa de la enfermedad, con la aplicación de una batería de test validados no invasivos, incrementa el diagnóstico de disfunción autonómica encubierta en un porcentaje destacable.

5. En cuanto a los casos limítrofes, se detectaron cerca de un 22% de pacientes independientemente del tipo de test utilizado, lo que apoya la premisa de que la historia clínica y la exploración física son ineficaces o insuficientes para la detección precoz de este trastorno y la gran trascendencia, por sus implicaciones de intervención temprana, de poder disponer de métodos no invasivos específicos para detectar los estadios iniciales de la enfermedad, en las que el proceso tiene todavía un carácter reversible.
6. No hubo diferencias significativas en la edad de los grupos con y sin neuropatía, tanto en el test basal como en los dinámicos (54,9 vs 57,08 y 55,8 vs 56,6) respectivamente, con una edad media en torno a los 55 años, hecho esperable debido a la utilización de puntos de corte ajustados por edad. Sin embargo, a pesar del factor de corrección introducido para limitar el efecto de la edad en la evaluación se demostró una asociación estadísticamente significativa de la edad con RMSSDn, potencia en la banda LF, RMSSDp y ratio 30:15.
7. En cuanto a la diferencia de género, se observó una asociación estadísticamente significativa con el sexo mujer en los test dinámicos ( $p=0,046$ ) a diferencia del test basal donde permaneció limítrofe. La distribución fue de un 56,5% (N=13) de mujeres en el grupo con datos de NAC frente a un 23,8% (N=21) de mujeres en el grupo con resultados normales en los test dinámicos. Aunque existen distintos estudios acerca de esta posible asociación, no hay datos lo suficientemente consistentes a este respecto.
8. Como era esperado, se objetivó significación estadística de la NAC con la frecuencia cardíaca en los dos tipos de test (de reposo y tras estímulo), siendo más elevada en el grupo con pruebas positivas, mientras que el resto de parámetros hemodinámicos no presentaron ninguna correlación.
9. Sin llegar a alcanzar la significación estadística se observa una tendencia a la asociación con los diagnósticos de diabetes (46,4% en el grupo con datos de NACbasal vs un 28,8% en el grupo con resultados normales) y enfermedad

coronaria. En la evaluación de los tests dinámicos la diferencia entre prevalencia de sujetos con enfermedad coronaria en ambos grupos (NACdinámico vs normal) fue más evidente que en reposo y alcanzó la significación estadística. Por el contrario la diferencia entre las prevalencias de sujetos diabéticos fue menos clara que la observada en reposo.

10. La prediabetes y no solo la diabetes se asoció a disfunción autonómica de manera significativa en el análisis estratificado del test basal ( $p=0,008$ ). Esta asociación entre prediabetes y disfunción autonómica es un hallazgo previamente no conocido. De constatarse esta asociación en futuros estudios con una muestra poblacional mayor constituiría un aliciente más para promover el diagnóstico precoz.
11. Se observó una asociación estadísticamente significativa entre la presencia de NAC y los niveles de A1C, siendo ésta casi medio punto más baja en ausencia de NAC tanto en el test basal como en los tests dinámicos, hecho probablemente relacionado con los hallazgos clínicos anteriormente descritos y en concordancia con los resultados de grandes estudios como el estudio EURODIAB.
12. Al realizarse el análisis de correlación lineal entre los parámetros de VFC de los test de reposo y tras estímulo, se observa una correlación negativa estadísticamente significativa entre el índice de aumento IAx-75 y el índice vagal en reposo, la potencia en la banda de baja, alta frecuencia y el ratio 30:15; con una  $p=0,042$ ,  $0,013$ ,  $0,016$  y  $<0,001$  respectivamente.
13. El índice vagal en el test de respiración profunda (RMSSDp) presentó una correlación limítrofe ( $p=0,052$ ) con la rigidez arterial evaluada por el IAx-75. No se demostró por el contrario significación estadística con el ratio Valsalva.
14. En el análisis por modelo de regresión múltiple, al incluir el efecto de la edad y el sexo del paciente para evaluar la relación entre la rigidez arterial y las variables de RMSSD en patrón de respiración normal, potencia en la banda de

baja y alta frecuencia y ratio 30:15, dejó de ser estadísticamente significativa. No hubo diferencias en cuanto al ratio Valsalva, que continuó siendo no significativo, y la relación IAx-75 y RMSSD en patrón de respiración profunda, que en la correlación univariante se encontraba al límite de la significación estadística, apareció como no significativo. Por tanto, no solo la edad, también el sexo, explican la relación entre las variables que se habían objetivado como significativas en el análisis univariante.

15. A pesar de que no se objetivó en nuestra serie asociación estadísticamente significativa entre los grupos con datos de disfunción autonómica y el estrés oxidativo, probablemente debido al pequeño tamaño muestral, sí se detectaron diferencias en el estudio por terciles. Los sujetos con niveles de logTBARS en el tercil superior tenían una VFC menor en los tres parámetros del test de reposo (RMSSD, potencia en la banda de baja y alta frecuencia) que aquellos pacientes cuyos niveles de logTBARS estaban en el tercil inferior. Se alcanzó la significación estadística con RMSSDn ( $p=0,047$ ) y con la potencia en la banda de alta frecuencia ( $p=0,020$ ). La potencia en la banda de baja frecuencia permaneció limítrofe ( $p=0,057$ ).
16. Ante los resultados significativos observados con la variable logTBARS y los parámetros del test basal de evaluación autonómica, se realizó el análisis por modelo de regresión múltiple para evaluar el impacto de la edad y el sexo en dicha asociación. Se constató una relación entre RMSSDn y la potencia en la banda de la alta frecuencia y la pertenencia al tercil superior o inferior de logTBARS independiente de la edad y el sexo.
17. Con el fin de estratificar a nuestra población según sus niveles de estrés oxidativo y disfunción endotelial de manera conjunta, se establecieron tres diferentes categorías de daño (bajo - medio - alto) en función de los terciles previamente definidos del logTBARS y ADMA. Se observó una tendencia a la significación estadística en las diferencias entre los tests basales, no así en los test dinámicos. Dichas diferencias no fueron explicables por la edad.



18. La asociación (correlación lineal) entre logTBARS y rsTNF- $\alpha$ 2 resultó muy significativa con una  $p < 0,001$ . De esta forma podemos confirmar que en un escenario cardiometabólico la metainflamación de origen abdominal tiene mucho que decir en el estrés oxidativo acompañante, pero no participa tan directamente en la NAC como el estrés oxidativo relacionado directamente con la disfunción endotelial medida por ADMA. Al estratificar el daño por TBARS y rsTNF- $\alpha$  2, únicamente la potencia en la banda de alta frecuencia mostró una tendencia a la asociación.
19. En cuanto a la relación entre la VFC en reposo medida por la potencia en la banda de HF (seleccionada por ser ésta la variable de mayor significación en el test basal en nuestro estudio) con el modelo de regresión lineal múltiple explicativo en el que la edad y el sexo fueron covariables fijas y en el que se incluyeron como variables independientes logTBARS, IAx-75, diabetes e hipertensión arterial, se observó que la relación entre NAC en test basal (medido por potencia en banda HF), logTBARS y rigidez arterial (medida por IAx-75) fue independiente del sexo y la edad.
20. El mismo análisis de correlación multivariante mencionado, se aplicó al ratio 30:15, como medida de mayor significación de los test dinámicos y se observó que la presencia de diabetes, la edad y el sexo fueron las tres variables que se asociaron de manera significativa a la VFC medida por ratio 30:15 de manera independiente del logTBARS y la rigidez arterial.
21. La disfunción autonómica y la PCR están asociadas aunque de forma significativa solo en situación basal. Su relación con el sexo, en el límite de la significación, podría explicar algunos de los hallazgos encontrados en relación con el género pero su inespecificidad no nos permite extraer conclusiones adicionales. Su falta de correlación con los biomarcadores nos hace sospechar que sus potenciales implicaciones patogénicas son bajas en cuanto a la disfunción autonómica se refiere.

22. La hipótesis metabólica sola no explica la disfunción autonómica en un escenario como el nuestro, las hipótesis vascular y oxidativa son claves para entender el proceso en aras de su prevención.
23. La rigidez arterial, la disfunción autonómica y la disfunción endotelial constituyen la triada esencial que explicaría que el “factor edad” sea el de mayor impacto cardiovascular de todos los conocidos pero el presente trabajo pone de manifiesto que hay una interacción entre estos componentes del ámbito cardiometabólico entre sí y de cada uno de ellos con la disfunción autonómica que es independiente de la edad.

# 7. BIBLIOGRAFÍA

---

## 7. BIBLIOGRAFÍA

1. Instituto Nacional de Estadística. Defunciones según la causa de muerte. Año 2014. Nota de prensa 963 - 30 marzo 2016.
2. Marrugat J, Elosua R, Gil M. Unidad de lípidos y Epidemiología Cardiovascular. Instituto Municipal de Investigación Médica de Barcelona. Muerte súbita (I). Epidemiología de la muerte súbita cardíaca en España. Rev Esp Cardiol. 1999; 52:717-25.
3. Langer A, Freeman MR, Josse RG, Steiner G, Armstrong PW. Detection of silent myocardial ischemia in diabetes mellitus. Am J Cardiol 1991; 67:1073-8.
4. Uusitupa MIJ, Mustonen J, Korpijaakko A, Pukkila KM, Puntilla J. Drug-induced acute autonomic blockade impairs left ventricular systolic and diastolic function. Am J Noninvas Cardiol 1989; 3:42-7.
5. Ambepityia G, Kopelman PG, Ingram D, Swash M, Mills PG, et al. Exertional myocardial ischemia in diabetes: a quantitative analysis of anginal perceptual threshold and the influence of autonomic function. J Am Coll Cardiol 1990; 15:72-7.
6. Guyton, A.C. Anatomía y fisiología del sistema nervioso. Neurociencia básica. Editorial Médica Panamericana. 1989.
7. Guyton, A.C. y Hall, J.E. Tratado de Fisiología Médica. Editorial McGraw – Hill Interamericana. 1997.
8. Bakewell S. The autonomic nervous system. 1995; 6:1-2.
9. David H P, Streeten M B. General organization of the autonomic nervous system. Natinal Dysautonomia Research Foundation 2000.
10. Navarro Acebes X. Trastornos del sistema nervioso autónomo. En Farreras-Rozman. Medicina Interna. XVIII Edición. 2016; 1318-1319.

11. Low PA, Engstrom JW. Trastornos del Sistema nervioso autónomo. En Harrison. Principios de Medicina Interna. Vol II. 2008; 2576-82.
12. Silva Costa Gomes, T. Sistema Nervioso Autónomo: inervación cardíaca. En "Fisiología del Sistema nervioso autónomo". 2012.
13. Tsfaye S, Boulton AJ, Dyck PJ, et al. Diabetic neuropathies: update on definitions, diagnostic criteria, estimation of severity, and treatments. Diabetes Care 2010; 33:2285.
14. Martin Soledad. Detección de neuropatía autonómica cardíaca con maniobras de baja complejidad en atención ambulatoria. Instituto Universitario de Ciencias de la Salud. Fundación H.A. Barceló. 2013.
15. Low PA. The effect of aging on the autonomic nervous system. Clinical Autonomic Disorders. Low PA, ed Boston: Little Brown and Company; 1993: 685-700.
16. Ingall TJ, McLeod JG, O Brine PC. The effect of aging on autonomic nervous system function. Aust N Z J Med 1990; 20:570-577.
17. Peinado MA, del Moral ML, Esteban FJ, Martínez-Lara E, Siles E, et al. Aging and Neurodegeneration: molecular and cellular bases Rev Neurol 2000; 31 (11): 1054-10.
18. Pardo Andreu G, Delgado Hernández Senescencia celular y envejecimiento. R. Rev Cubana Invest Biomed 2003;22(3):204-12).
19. Ticse Aguirre Ray, Villena Chavez Jaime, Pimentel Valdivia Renán. Prevalence of Cardiovascular Autonomic Neuropathy in patients with type 2 diabetes mellitus of general hospital. Rev Med Hered 2007: 18:129-135.
20. Collado Márquez S, Vegas Jáudenes I, Delgado Cortés S, de Miguel Ballano A, Escortell Mayorca E, et al. Aten Primaria 2008; 40:511-5. Neuropatía autonómica diabética diagnosticada mediante un test cardiovascular en pacientes con diabetes tipo 2

21. Fontbonne AM, Eschwège EM. Insulin and cardiovascular disease. Paris Prospective Study. *Diabetes Care*. 1991; 14(6):461-9.
22. Singh R, Barden A, Mori T, Beilin L. Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 2001; 44:129-146.
23. Bucala R. Lipid and lipoprotein modification by AGE's role in atherosclerosis. *Exp Physiol* 1997; 82:327-337.
24. Martínez-Conde Fernández A, Paredes Fernández CM, Zacarías Castillo R. Neuropatía diabética *Rev Hosp Gral Dr. M Gea González* 2002; 5(1-2):7-23.
25. Micheli F. Tratado de Neurología clínica. Enfermedades de la Medicina Interna. Complicaciones neurológicas de las enfermedades sistémicas. 2002; 1387.
26. Feldman EL, Stevens MJ, Greene DA. Pathogenesis of diabetic neuropathy. *Clinical Neuroscience* 1997; 4:365-70.
27. Sima AA, Sugimoto K. Experimental diabetic neuropathy: an update. *Diabetología* 1999; 42(7):773-88.
28. Hayashi M. Oxidative stress in developmental brain disorders. *Neuropathology* 2009; 29: 1-8.
29. Ceccatelli S, Tamm C, Zhang Q, Chen M Mechanisms and modulation of neural cell damage induced by oxidative stress. *Physiol Behav*. 2007; 92:87-92.
30. Larsen SA, Kassem M, Rattan SIS. Glucose metabolite glyoxal induces senescence in telomerase-immortalized human mesenchymal stem cells: *Chemistry Central Journal* 2012, 6:18: 1-13.
31. Espinosa M.L., Santiago-Pérez S., Guzmán J., Prieto J., Ferrer-Gila T. Estudio neurofisiológico de fibras mielinizadas finas y amielínicas. *Rev Neurol* 1999; 28:535-543.
32. Garbay B, Heape AM, Sargueil F, Cassagne C. Myelin synthesis in the peripheral nervous system. *Prog Neurobiol*. 2000 Jun; 61(3):267-304.

33. Jenner P. Oxidative stress in Parkinson's disease *Ann Neurol* 2003; 53: 26-36.
34. Jenner P, Olanow CW. Oxidative stress and the pathogenesis of Parkinson's disease. *Neurology* 1996; 47(6):161-70.
35. Santiago López D, Rivas Arancibia S. Estrés oxidativo, metabolitos oxidados de dopamina y enfermedad de Parkinson. *Rev Fac Med UNAM* 2008; 51:104-107.
36. Butterfield DA, Perluigi M, Sultana R. Oxidative stress in Alzheimer's disease brain: New insights from redox proteomics. *Eur J Pharmacol* 2006; 545:39-50.
37. Cumsee, C., Landshamer, S. Molecular insights into mechanisms of cell death program: role in the progression of neurodegenerative disorders. *Curr. Alzheimer Res.* 2006; 3: 269-283.
38. F.J. Jiménez-Jiménez, H. Alonso-Navarro, L. Ayuso-Peralta, T. Jabbour-Wadiah Estrés oxidativo y enfermedad de Alzheimer. *Rev Neurol* 2006; 42 (7): 419-427
39. Gilgun-Sherki Y, Melamed E, Offen D. The role of oxidative stress in the pathogenesis of multiple sclerosis: the need for effective antioxidant therapy. *J Neurol.* 2004; 251(3):261-8.
40. Lutskii MA, Esaulenko IE. Oxidant stress in the pathogenesis of multiple sclerosis. *Neurosci Behav Physiol.* 2007; 37(3):209-13.
41. Szegezdi E, Logue SE, Gorman AM, Samali A. Mediators of endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. *EMBO Rep.* 2006; 7(9): 880-5.
42. Rasheva VI, Domingos PM. Cellular responses to endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Apoptosis.* 2009; 14(8):996-1007.
43. Demirtas L, Guclu A, Erdur FM, Akbas EM, Ozcicek A, et al. Apoptosis, autophagy & endoplasmic reticulum stress in diabetes mellitus. *Indian J Med Res.* 2016 Oct; 144(4):515-524.
44. Su J, Zhou L, Kong X, Yang X, Xiang X, et al. Endoplasmic reticulum is at the crossroads of autophagy, inflammation, and apoptosis signaling pathways and

- participates in the pathogenesis of diabetes mellitus. *J Diabetes Res.* 2013; 193461.
45. Sabán-Ruíz J, Fabregate-Fuente M, Fabregate-Fuente R, Alonso-Pacho A, de la Puerta González-Quevedo C. An Approach to Obesity as a Cardiometabolic Disease: Potential Implications for Clinical Practice. *Anti-Obesity Drug Discovery and Development.* 2014; 83(2): 3-85).
  46. Vinik AI, Erbas T. Diabetic autonomic neuropathy. *Handb Clin Neurol* 2013; 117:297-94.
  47. Sampson MJ, Wilson S, Karagiannis P, Edmonds M, Watkins PJ. Progression of diabetic autonomic neuropathy over a decade in insulin-dependent diabetics. *QJ Med* 1990; 75-635.
  48. Bernardi L, Ricordi L, Lazzari P, et al. Impaired circadian modulation of sympathovagal activity in diabetes. A possible explanation for altered temporal onset of cardiovascular disease. *Circulation* 1992; 86:1443.
  49. Aronson D, Weinrauch LA, D'Elia JA, et al. Circadian patterns of heart rate variability, fibrinolytic activity, and hemostatic factors in type I diabetes mellitus with cardiac autonomic neuropathy. *Am J Cardiol* 1999; 84:449.
  50. Zander E, Schulz B, Heinke P, et al. Importance of cardiovascular autonomic dysfunction in IDDM subjects with diabetic nephropathy. *Diabetes Care* 1989; 12:259.
  51. Faerman I, Faccio E, Milei J, Nuñez R, Jadzinsky M, et al. Autonomic neuropathy and painless myocardial infarction in diabetic patients. Histologic evidence of their relationship. *Diabetes* 1977; 26(12):1147-58.
  52. Watkins PJ, Mackay JD. Cardiac denervation in diabetic neuropathy. *Ann Intern Med.* 1980; 92:304-7.
  53. Watkins PJ, Edmonds ME. Sympathetic nerve failure in diabetes. *Diabetologia.* 1983; 25(2):73-7.



54. Watkins PJ, Mackay JD. Assessment of diabetic autonomic neuropathy using heart rate monitoring. *Horm Metab Res Suppl.* 1980;9:69-72
55. Ewing DJ, Martyn CN, YoungRJ, Clarke BF. The value of cardiovascular autonomic function test: 10 years experience in diabetes. *Diabetes Care* 1985; 8:491-8.
56. Wackers FJ, Young LH, Inzucchi SE, et al. Detection of silent myocardial ischemia in asymptomatic diabetic subjects: the DIAD study. *Diabetes Care* 2004; 27:1954.
57. Valensi P, Sachs RN, Harfouche B, et al. Predictive value of cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients with or without silent myocardial ischemia. *Diabetes Care* 2001; 24:339.
58. Vinik AI, Maser RE, Mitchell BD, Freeman R. Diabetic autonomic neuropathy. *Diabetes Care* 2003; 26:1553.
59. Fearley RD, Low PA, Thomas JE. Thermoregulatory sweating abnormalities in diabetes mellitus. *Mayo Clin Proc* 1989;64:617-28
60. Ziegler D. Cardiovascular autonomic neuropathy: clinical manifestations and measurement. *Diabetes Reviews* 1999; 7:342.
61. Maser RE, Mitchell BD, Vinik AI, Freeman R. The association between cardiovascular autonomic neuropathy and mortality in individuals with diabetes: a meta-analysis. *Diabetes Care* 2003; 26:1895.
62. Pop-Busui R, Evans GW, Gerstein HC, Fonseca V, Fleg JL, et al. Effects of cardiac autonomic dysfunction on mortality risk in the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) trial. *Diabetes Care* 2010; 33:1578-84.
63. O' Brien IA, McFadden JP, Corral RJ. The influence of autonomic neuropathy on mortality in insulin-dependent diabetes. *QJ Med* 1991; 79:495.

64. Navarro X, Kennedy WR, Sutherland DE. Autonomic neuropathy and survival in diabetes mellitus: effects of pancreas transplanted. *Diabetologia* 1991; 34(1):108.
65. Rathmann W, Ziegler D, Jahnke M, Haastert B, Gries FA, et al. Mortality in diabetic patients with cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabet Med* 1993; 10: 820.
66. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. The natural history of diabetic autonomic neuropathy. *QJ Med* 1980; 49-95.
67. Soedamah-Muthu SS, Chaturvedi N, Witte DR, Stevens LK, Porta M, et al. EURODIAB Prospective Complications Study Group. Relationship between risk factors and mortality in type 1 diabetic patients in Europe: the EURODIAB Prospective Complications Study (PCS). *Diabetes Care* 2008; 31:1360.
68. Spallone V, Ziegler D, Freeman R, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy in diabetes: clinical impact, assessment, diagnosis, and management. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27:639.
69. Bernardi L, Spallone V, Stevens M, et al. Methods of investigation for cardiac autonomic dysfunction in human research studies. *Diabetes Metab Res Rev* 2011; 27:654.
70. Ewing DJ, Clarke BF. Autonomic neuropathy: its diagnosis and prognosis. *Clin Endocrinol Metab.* 1986; 15(4):855-88.
71. Ewing DJ, Campbell IW, Clarke BF. Assessment of cardiovascular effects in diabetic autonomic neuropathy and prognostic implications. *Annals of Internal Medicine* 1980; 92:308-11.
72. Pop-Busui R. Cardiac autonomic neuropathy in diabetes: a clinical perspective. *Diabetes Care.* 2010; 33(2):434-41.
73. Smith M. Reduced sinus arrhythmia in diabetic autonomic neuropathy: Diagnostic value of an age-related normal range. *Br Med J* 1982; 285:1599-601.

74. American Diabetes Association and American Academy of Neurology: "Proceedings of a consensus development conference on standardized measures in diabetic neuropathy". *Diabetes Care* 1992; (15): 1080–1107.
75. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation* 1996; 93:1043-65.
76. Boulton AJ, Vinik AI, Arezzo JC, Bril V, Feldman EL, et al. Diabetic neuropathies: a statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2005; 28(4):956-62.
77. American Diabetes Association and American Academy of Neurology: Consensus Statement. Report and Recommendations of the San Antonio Conference on Diabetic Neuropathy. *Diabetes Care* 1998; 11:592-7.
78. Risk M, Bril V, Broadbridge C et al. Heart Rate variability measurement in diabetic neuropathy: review of methods. *Diabetes Technology & Therapeutics*. 2001; 3(1): 63-76.
79. Carlos A. Morillo, Juan C. Guzmán. "Evaluación del sistema nervioso autónomo". *Guía Neurológica* 7, 2005; 24: 221-235.
80. Radespiel-Tröger M, Rauh R, Mahlke C et al. Agreement of two different methods for measurement of heart rate variability. *Clin Auton Res* 2003; 13: 99-102.
81. Malik M, Camm AJ. Components of heart rate variability--what they really mean and what we really measure. *Am J Cardiol* 1993; 72:821.
82. Seely AJ, Macklem PT. Complex systems and the technology of variability analysis. *Crit Care* 2004; 8:R367.
83. Dynamic Electrocardiography, Malik M, Camm AJ (Eds), Blackwell Futura, Elmsford 2004.

84. Strauss, HM. Heart Rate Variability. *Am J Physiol* 2003; 285:R927.
85. Malik, M, Camm, AJ. Heart Rate Variability. Futura Publishing Company, Armonk 1995.
86. Voss A, Schulz S, Schroeder R, et al. Methods derived from nonlinear dynamics for analysing heart rate variability. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci* 2009; 367:277.
87. Sassi R, Cerutti S, Lombardi F, et al. Advances in heart rate variability signal analysis: joint position statement by the e-Cardiology ESC Working Group and the European Heart Rhythm Association co-endorsed by the Asia Pacific Heart Rhythm Society. *Europace* 2015; 17:1341.
88. Gil Rodas C, Pedret Carballido JR, Capdevila L. Variabilidad de la frecuencia cardiaca: concepto, medidas y relación con aspectos clínicos (I). *Archivos de Medicina del Deporte* 2008; 123: 41-47.
89. Palma Gámiz JL, Arribas Jiménez A, González Juanatey JR, Marín Huerta E, Martín-Ambrosio ES. Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en la monitorización ambulatoria del electrocardiograma y presión arterial. *Rev Esp Cardiol* 2000; 53(1); 91-109.
90. Vinik AI, Park TS, Stansberry KB, Pittenger GL. Diabetic neuropathies. *Diabetologia* 2000; 43(8):957-73.
91. Zhang Y, Critchley LA, Tam YH, Tomlinson B. Short-term postural reflexes in diabetic patients with autonomic dysfunction. *Diabetologia*. 2004; 47(2):304-11.
92. Vlachopoulos C, Aznaouridis K, O'Rourke MF, Safar ME, Baou K, et al. Prediction of cardiovascular events and all-cause mortality with central haemodynamics: a systematic review and meta-analysis. *EurHeart J* 2010; 31:1865–71.

93. McEniery CM, Yasmin, Hall IR, Qasem A, Wilkinson IB. Normal vascular aging: differential effects on wave reflection and aortic pulse wave velocity: the Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT) J Am Coll Cardiol. 2005; 46:1753–1760.
94. Cecelja M, Chowienczyk P. Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review. Hypertension. 2009; 54:1328–1336).
95. Townsend R, Wilkinson I, Schiffrin E, Avolio AP, Chirinos JA, et al; on behalf of the American Heart Association Council on Hypertension. Recommendations for Improving and Standardizing Vascular Research on Arterial Stiffness. A Scientific Statement from the American Heart Association. Hypertension. 2015; 66(3):698–722.
96. Le Couteur DG, Lakatta EG. A vascular theory of aging. J Gerontol A BiolSci Med Sci. 2010; 65:1025-7.
97. Taddei S, Virdis A, Ghiadoni L, Sudano I, Salvetti A. Effects of antihypertensive drugs on endothelial dysfunction: clinical implications. Drugs. 2002; 62: 265–284.
98. Weber T, Auer J, O'Rourke MF, Kvas E, Lassnig E, et al. Arterial stiffness, wave reflections, and the risk of coronary artery disease. Circulation 2004; 109(2):184-9.
99. Cruickshank K, Riste L, Anderson SG, Wright JS, Dunn G, et al. Aortic pulse-wave velocity and its relationship to mortality in diabetes and glucose intolerance: an integrated index of vascular function?. Circulation. 2002; 106(16):2085-90.
100. Nürnberger J, Keflioglu-Scheiber A, Opazo Saez AM, Wenzel RR, Philipp T, et al. Augmentation index is associated with cardiovascular risk. J Hypertens. 2002; 20:2407-14.

101. Chirinos JA, Zambrano JP, Chakko S, Veerani A, Schob A, et al. Aortic Pressure Augmentation Predicts Adverse Cardiovascular Events in Patients with Established Coronary Artery Disease. *Hypertensión*. 2005; 45:980-5.
102. Zureik M, Bureau JM, Temmar M, Adamopoulos C, Courbon D, et al. Echogenic Carotid Plaques Are Associated With Aortic Arterial Stiffness in Subjects With Subclinical Carotid Atherosclerosis. *Hypertensión*. 2003; 41:519-27.
103. Binder J, Bailey KR, Seward JB, Squires RW, Kunihiro T, et al. Augmentation Index is Inversely Associated With Cardiorespiratory Fitness in Men Without Known Coronary Heart Disease. *Am J Hypertens*. 2006; 19:1019-24.
104. Masnatta LD, Fischer PA, Dominguez GN, Cabrera Fischer EI, Ramirez AJ, et al. Marcadores de estrés oxidativo. Su valor en la prevención y detección precoz de la enfermedad cardiovascular en el Hospital de Día. *Rev Fed Arg Cardiol* 2003; 32: 177-183.
105. Tokunaga O, Satoh T, Yamasaki F, Wu L. Multinucleated variant endothelial cells (MVECs) in human aorta: chromosomal aneuploidy and elevated uptake of LDL. *Semin Thromb Hemost*. 1998; 24(3):279-84.
106. Fedarko NS. The Biology of Aging and Frailty. *Clin Geriatr Med*. 2011; 27(1):27-37.
107. Dayoub H, Achan V, Adimoolam S, Jacobi J, Stühlinger MC, et al. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates nitric oxide synthesis: genetic and physiological evidence. *Circulation* 2003; 108:3042-7.
108. Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, et al. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolised by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol*. 2003; 23:1455-9.

109. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Böger SM, Tsikas D, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* 2004; 109:172-7.
110. Valkonen VP, Päivä H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, et al. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet*. 2001; 358(9299):2127-8.
111. Brzosko S, Krauze-Brzosko K, de Gaetano G, Iacoviello L. Asymmetrical dimethylarginine and risk of acute coronary events. *Lancet*. 2002; 359(9317):1620.
112. Wiman B. Predictive value of fibrinolytic factors in coronary heart disease. *Scand J Clin Lab Invest Suppl*. 1999; 230:23-31.
113. Wiman B1. Plasminogen activator inhibitor 1 (PAI-1) in plasma: its role in thrombotic disease. *Thromb Haemost*. 1995; 74(1):71-6.
114. Kaji H. Adipose Tissue-Derived Plasminogen Activator Inhibitor-1 Function and Regulation. *Compr Physiol*. 2016; 6(4):1873-96.
115. Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol*. 2008; 79(8):1544-51.
116. Urieli-Shoval S, Linke RP, Matzner Y. Expression and function of serum amyloid A, a major acute-phase protein, in normal and disease states. *Curr Opin Hematol*. 2000;7(1):64-9.
117. Ridker P.M., Danielson E., Fonseca F.A., Genest J, Gotto AM, et al. for the JUPITER Study Group. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 2008; 359:2195-207.
118. M. Rubio, A. de Andrés, N. de la Torre, J. Sabán. Marcadores inmunológicos de la disfunción endotelial y de la aterosclerosis. En *Control global del riesgo Cardiometabólico. La disfunción endotelial como diana preferencial*. 2009;1: 637-56.

119. Smith SC Jr, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Fadhil YY, Koenig W, et al. CDC/AHA Workshop on Markers of Inflammation and Cardiovascular Disease: Application to Clinical and Public Health Practice: report from the clinical practice discussion group. *Circulation*. 2004; 110(25):e550-3.
120. Ridker PM, Haughey P. Prospective studies of C-reactive protein as a risk factor for cardiovascular disease. *J Investig Med*. 1998; 46: 391–5.
121. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. 2000; 342: 836–43.
122. Tracy RP, Lemaitre RN, Psaty BM, Ives DG, Evans RW, Cushman M, Meilahn EN, Kuller LH. Relationship of C-reactive protein to risk of cardiovascular disease in the elderly: results from the Cardiovascular Health Study and the Rural Health Promotion Project. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1997; 17: 1121–7.
123. Cheng C, Daskalakis C. Association of Adipokines with Insulin Resistance, Microvascular Dysfunction, and Endothelial Dysfunction in Healthy Young Adults. *Mediators Inflamm*. 2015; 2015:594039.
124. Aldhahi W, Hamdy O. Adipokines, inflammation, and the endothelium in diabetes. *Curr Diab Rep*. 2003; 3(4):293-8.
125. Xavier Palomer, Antonio Pérez, Francisco Blanco-Vaca. Adiponectin: a new link between obesity, insulinresistance and cardiovascular disease. *Med Clin* 2005; 124:388-95.
126. Beltowski J. Adiponectin and resistin new hormones of white adipose tissue. *Med Sci Moni*, 2003; 9:55RA-61.
127. Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, Matsuzawa Y, Walsh K. Obesity, adiponectin and vascular inflammatory disease. *Curr Opin Lipido*, 2003; 561-6.
128. Shimada K, Miyazaki T, Daida H. Adiponectin and atherosclerotic disease. *Clin Chim Acta*, 2004; 344: 1-12.



129. Yokota T, Oritani K, Takahashi I, Ishikawa J, Matsuyama A, et al. Adiponectin, a new member of the family of soluble defense collagens, negatively regulates the growth of myelomonocytic progenitors and the functions of macrophages. *Blood*. 2000; 96:1723-32.
130. Arita Y, Kihara S, Ouchi N, Maeda K, Kuriyama H, et al. Adipocyte-derived plasma protein, adiponectin, acts as a platelet-derived growth factor-BB binding protein, and regulates growth factor-induced common post-receptor signal in vascular smooth muscle cell. *Circulation* 2002; 105: 2893-8.
131. Han S, Sun HM, Hwang KC, Kim SW. Adipose-Derived Stromal Vascular Fraction Cells: Update on Clinical Utility and Efficacy. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*. 2015; 25(2):145-52.
132. Gimble JM, Bunnell BA, Chiu ES, Guilak F. Concise review: Adipose-derived stromal vascular fraction cells and stem cells: let's not get lost in translation. *Stem Cells*. 2011; 29(5):749-54.
133. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends Cell Biol*. 2001; 11:372-7.
134. Aderka D, Engelmann H, Maor Y, Brakebusch C, Wallach D. Stabilization of the bioactivity of tumor necrosis factor by its soluble receptors. *J Exp Med*. 1992; 175:323-9.
135. Selinsky CL, Boroughs KL, Halsey WA, Howel MD. Multifaceted inhibition of anti-tumor immune mechanisms by soluble tumor necrosis factor receptor type I. *Immunology*. 1998; 94:88-93.
136. Esteve E, Castro A, López-Bemejo A, Ricart W, Fernandez-Real JM. Divergent relationships among soluble TNF-alpha receptor 1 and 2, insulin resistance and endothelial function. *Diabetes Care*. 2006; 29:1460-1.

137. Sugano M, Hata T, Tsuchida K, Suematsu N, Oyama J, et al. Local delivery of soluble TNF-alpha receptor 1 gene reduces infarct size following ischemia/reperfusion injury in rats. *Mol Cell Biochem.* 2004; 206:127-32.
138. Sugano M, Tsuchida K, Hata T, Makino N. In vivo transfer of soluble TNF-alpha receptor 1 gene improves cardiac function and reduces infarct size after myocardial infarction in rats. *FASEB J.* 2004; 18:911-3.
139. Sugano M, Tsuchida K, Makino N. Increased proliferation of endothelial cells with overexpression of soluble TNF-alpha receptor I gene. *Atherosclerosis.* 2002; 162:77-84.
140. Benjafeld AV, Wang XL, Morris BJ. Tumor necrosis factor receptor 2 gene (TNFRSF1b) in genetic basis of coronary artery disease. *J Mol Med.* 2001; 79:109-15.
141. Dzienis-Strackowska S, Strackowski M, Szelachowska M, Stepień A, Kowalska I, et al. Soluble tumor necrosis factor-alpha receptors in young obese subjects with normal and impaired glucose tolerance. *Diabetes Care.* 2003; 26:875-80.
142. Fernandez-Real JM, Lainez B, Vendrell J, Rigla M, Castro A, Peñarroja G, et al. Shedding of TNF-alpha receptors, blood pressure, and insulin sensitivity in type 2 diabetes mellitus. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2002; 282:952-9.
143. Fernández-Real JM. Resistencia a la insulina y aterosclerosis. Impacto del estrés oxidativo en la función endotelial. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2008; 8 (C):45-52.
144. Sedger LM, McDermott MF. TNF and TNF-receptors: From mediators of cell death and inflammation to therapeutic giants – past, present and future. *Cytokine & Growth Factor Reviews,* 2014; 25:453-72.
145. Stepan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, et al. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature.* 2001; 409:307–12.

146. Nagaev I, Bokarewa M, Tarkowski A, Smith U. Human resistin is a systemic immune-derived proinflammatory cytokine targeting both leukocytes and adipocytes. *PLoS One*. 2006; 1:31.
147. Comninos AN, Jayasena CN, Dhillon WS. The relationship between gut and adipose hormones, and reproduction. *Hum Reprod Update*. 2013; 20:153–74.
148. Robertson SA, Rae CJ, Graham A. Induction of angiogenesis by murine resistin: putative role of PI3-kinase and NO-dependent pathways. *Regul Pept*. 2009; 152:41–7.
149. Conti FF, Brito JO, Bernardes N, Dias DS, Sanches IC, et al. Cardiovascular autonomic dysfunction and oxidative stress induced by fructose overload in an experimental model of hypertension and menopause. *BMC Cardiovasc Disord*. 2014; 14:185.
150. De Angelis K, Senador DD, Mostarda C, Irigoyen MC, Morris M. Sympathetic overactivity precedes metabolic dysfunction in a fructose model of glucose intolerance in mice. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2012; 302(8):R950-7.
151. Brito JO, Ponciano K, Figueroa D, Bernardes N, Sanches IC, et al. Parasympathetic dysfunction is associated with insulin resistance in fructose-fed female rats. *J Med Biol Res*. 2008; 41(9):804-8.
152. Malfitano C, Barboza CA, Mostarda C, da Palma RK, dos Santos CP, et al. Diabetic hyperglycemia attenuates sympathetic dysfunction and oxidative stress after myocardial infarction in rats. *Cardiovasc Diabetol*. 2014; 13:131.
153. Rhoden CR, Wellenius GA, Ghelfi E, Lawrence J, González-Flecha B. PM-induced cardiac oxidative stress and dysfunction are mediated by autonomic stimulation. *Biochim Biophys Acta*. 2005; 1725(3):305-13.

154. Pei Y, Jiang R, Zou Y, Wang Y, Zhang S, et al. Effects of Fine Particulate Matter (PM<sub>2.5</sub>) on Systemic Oxidative Stress and Cardiac Function in ApoE(-/-) Mice. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13(5).
155. Thiyagarajan R, Subramanian SK, Sampath N, Madanmohan Trakroo, Pal P, et al. Association between cardiac autonomic function, oxidative stress and inflammatory response in impaired fasting glucose subjects: cross-sectional study. *PLoS One*. 2012; 7(7):e41889.
156. Takei Y, Tomiyama H, Tanaka N, Yamashina A. Close relationship between sympathetic activation and coronary microvascular dysfunction during acute hyperglycemia in subjects with atherosclerotic risk factors. *Circ J*. 2007; 71(2):202-6.
157. Gosmanov AR, Smiley DD, Robalino G, Siquiera J, Khan B, et al. Effects of oral and intravenous fat load on blood pressure, endothelial function, sympathetic activity, and oxidative stress in obese healthy subjects. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2010; 299(6):E953-8.
158. Lee MS, Eum KD, Fang SC, Rodrigues EG, Modest GA, et al. Oxidative stress and systemic inflammation as modifiers of cardiac autonomic responses to particulate air pollution. *Int J Cardiol*. 2014; 176(1):166-70.
159. Chuang KJ, Chan CC, Su TC, Lee CT, Tang CS. The effect of urban air pollution on inflammation, oxidative stress, coagulation, and autonomic dysfunction in young adults. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 176(4):370-6.
160. Ziegler D, Buchholz S, Sohr C, Nourooz-Zadeh J, Roden M. Oxidative stress predicts progression of peripheral and cardiac autonomic nerve dysfunction over 6 years in diabetic patients. *Acta Diabetol*. 2015; 52(1):65-72.
161. Ziegler D, Sohr CG, Nourooz-Zadeh J. Oxidative stress and antioxidant defense in relation to the severity of diabetic polyneuropathy and cardiovascular autonomic neuropathy. *Diabetes Care*. 2004; 27(9):2178-83.

162. Fadaee SB, Beetham KS, Howden EJ, Stanton T, Isbel NM, et al. Oxidative stress is associated with decreased heart rate variability in patients with chronic kidney disease. *Redox Rep.* 2016; 19:1-8.
163. Márquez J, Sabán J, de la Torre N. El endotelio sano y enfermo. El papel estelar del óxido nítrico y de la angiotensina II. Importancia de la mitocondria. Conceptos de “disfunción, síndrome y patología endoteliales”. *Control Global del Riesgo Cardiometabólico. La disfunción endotelial como diana preferencial.* 2009; 1: 81-109.
164. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review) *Vascular Pharmacology.* 2015; 71:40-56.
165. Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World Journal of Cardiology.* 2014; 6(6):462–77.
166. Bonet L, Nava M. “Estrés oxidativo y algunas formas de insuficiencia renal aguda”, *Bioquímica.* 2002; 27(1):13-7.
167. National Heart Lung and Blood Institute (NHBI). Workshop on oxidative stress/inflammation and heart. 2004.
168. Hicks JJ, Torres YD, Sierra MP. Estrés oxidante. Concepto y clasificación. *Revista de Endocrinología y Nutrición.* 2006; 14:223-6.
169. J. Sabán, N. de las Heras, M. Fabregate, D. Barrio, S. Cano, et al. Diagnóstico bioquímico de la disfunción endotelial. En *Control Global del Riesgo Cardiometabólico. La disfunción endotelial como diana preferencial.* 2016; 2:1-35.
170. Ohkawa H, Ohishi N, Yagi K: Essay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical Biochemistry* 1979; 95: 351-358.

171. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, et al. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97(18):1837-47.
172. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, et al. SCORE Project Group. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE Project. *Eur Heart J*. 2003 Jun; 24(11):987-1003.
173. Assman G, Cullen P, Schulte H. The Münster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J* 1998; 19 Suppl A: 2-11.
174. Schlessinger L, Eddy DM. Archimedes: a new model for simulating health care systems--the mathematical formulation. *J Biomed Inform*. 2002; 35(1):37-50.
175. Eddy DM, Schlessinger L: Archimedes: a trial-validated model of diabetes. *Diabetes Care* 2003; 26:3093–3101.
176. Eddy DM, Schlessinger L: Validation of the archimedes diabetes model. *Diabetes Care* 2003; 26:3102-3110.
177. Ridker PM, Buring JE, Rifai N, Cook NR. Development and validation of improved algorithms for the assessment of global cardiovascular risk in women: the Reynolds Risk Score. *JAMA*. 2007; 297(6):611-9.
178. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, et al.; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines *J Am Coll Cardiol*. 2014; 63(25):2889-934.
179. Gaede P, Vedel P, Larsen N, Jensen GV, Parving HH, et al. Multifactorial intervention and cardiovascular disease in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med* 2003; 348:383–93.

180. Sabán J, Fabregate R. Insulinresistencia e inflexibilidad metabólica. Interacción monocito-adipocito. Análisis crítico del síndrome metabólico. En Control Global del Riesgo Cardiometabólico. La disfunción endotelial como diana preferencial. 2009; 1: 145-78.
181. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. Am J Kidney Dis 2002; 39(2 Suppl 1):S1-266.
182. Klahr S, Levey AS, Beck GJ, Caggiula AW, Hunsicker L, et al. The effects of dietary protein restriction and blood-pressure control on the progression of chronic renal disease. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. N Engl J Med 1994; 330(13):877-884.
183. Rabe KF, Hurd S, Anzueto A, Barnes PJ, Buist SA, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. GOLD executive summary. Am J Respir Crit Care Med. 2007; 176:532-55.
184. World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. World Health Organ Tech Rep Ser. 2000; 894:1-253.
185. Mancia G, De Backer G, Dominiczak A, et al. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). Eur Heart J 2007; 28:1462-1536.
186. Executive Summary of The Third Report of The National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001; 285:2486-97.
187. American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes- 2008. Diabetes Care 2008; 31(S1): S12-S54.

188. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary. Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*. 2007 Sep; 14 Suppl 2:E1-40.
189. Agelink MW, Malessa R, Baumann B, Majewski T, Akila F, et al. Standardized tests of heart rate variability: normal ranges obtained from 309 healthy humans, and effects of age, gender, and heart rate. *Clin Auton Res*. 2001; 11(2):99-108.
190. Gulichsen E, Fleischer J, Ejksjaer N, Eldrup E, Tarnow L. Screening for Diabetic Cardiac Autonomic Neuropathy Using a New Handheld Device. *J Diabetes Sci Technol*. 2012 Jul; 6(4): 965–972.
191. Valensi P, Paries J, Attali JR. French Group for Research and Study of Diabetic Neuropathy Cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients : influence of diabetes duration, obesity and microangiopathic complications-The French Multicenter Study. *Metabolism* 2003 ; 52(7) : 815-820.
192. Ziegler D, Gries FA, Mühlen H, Rathmann W, Spüler M, et al. Prevalence and clinical correlates of cardiovascular autonomic and peripheral diabetic neuropathy in patients attending diabetes centers. The Diacan Multicenter Study Group. *Diabete Metab*. 1993; 19(1 Pt 2):143-51.
193. Cowan MJ, Pike K, Burr RL. Effects of gender and age on heart rate variability in healthy individuals and in persons after sudden cardiac arrest. *J Electrocardiol*. 1994; 27S:1-9.
194. Umetani K, Singer DH, McCraty R, Atkinson M. Twenty-four hour time domain heart rate variability and heart rate: relations to age and gender over nine decades. *J Am Coll Cardiol*. 1998; 31(3):593-601.



195. Piha SJ. Cardiovascular responses to various autonomic tests in males and females. *Clin Auton Res.* 1993; 3(1):15-20).
196. Lacigová S, Safránek P, Cechurová D, Krcma M, Vísek J, et al. Could we predict asymptomatic cardiovascular autonomic neuropathy in type 1 diabetic patients attending out-patients clinics? *Wien Klin Wochenschr.* 2007; 119(9-10):303–308.
197. Chen HT, Lin HD, Won JG, Lee CH, Wu SC, et al. Cardiovascular autonomic neuropathy, autonomic symptoms and diabetic complications in 674 type 2 diabetes. *Diabetes Res Clin Pract.* 2008; 82(2):282–290.
198. Gæde P, Vedel P, Parving H-H, Pedersen O. Intensified multifactorial intervention in patients with Type 2 diabetes and microalbuminuria: the Steno Type 2 randomised study. *Lancet* 1999; 353: 617-22.
199. Dafaalla MD, Nimir MN, Mohammed MI, Ali OA, Hussein A. Risk factors of diabetic cardiac autonomic neuropathy in patients with type 1 diabetes mellitus: a meta-analysis. *Open Heart.* 2016; 3(2): e000336.
200. Carrillo J, Bear IR. Biomarcadores, inflamación, estrés oxidativo, lípidos y aterotrombosis. *Aterosclerosis: un proceso inflamatorio. Arch Cardiol México.* 2004; 74(2):5379-84.
201. John S, Schmieder RE. Impaired endothelial function in arterial hypertension and hypercholesterolemia: potential mechanisms and differences. *J Hypertens.* 2000; 18:363-74.
202. Akyel, M.D., Atiye Çengel, M.D., Yusuf Tavil, M.D., Asife Şahinarslan, M.D., Salih Topal, M.D., et al. Relationship between plasma asymmetric dimethylarginine level and autonomic dysfunction in diabetic patients. *Arch Turk Soc Cardiol* 2012; 40(2):148-154.

203. Chan-Hee Jung, Bo-Yeon Kim, Chul-Hee Kim, Sung-Koo Kang, Sang-Hee Jung. Association of serum adipocytokine levels with cardiac autonomic neuropathy in type 2 diabetic patients. *Cardiovasc Diabetol.* 2012; 11:24
204. Nikolic VN, Jevtovic-Stoimenov T, Stokanovic D, Milovanovic M, Velickovic-Radovanovic R, et al. An inverse correlation between TNF alpha serum levels and heart rate variability in patients with heart failure). *J Cardiol.* 2013; 62(1):37-43.

# 8. ANEXOS

---

## 8.1. ANEXO I: ANÁLISIS DE ONDA DE PULSO

Parámetros	Descripción	Abreviatura <sup>2</sup>	Unidades
<b>Índices del pulso periférico</b>			
Frecuencia cardíaca	Número de latidos por minuto	HR (FC)	Latidos/minuto
Período	Longitud del pulso cardíaco en tiempo	TF (T)	mseg
Duración de eyección	Tiempo de eyección en un pulso	ED (DE)	mseg
Presión arterial sistólica y diastólica	Presión periférica (braquial) más alta y más baja respectivamente en un pulso cardíaco	SP, DP (PS, PD)	mmHg
Presión de pulso braquial	Diferencia entre la presión periférica máxima y mínima en un pulso cardíaco	PP	mmHg
<b>Índices de pulso central – Aórtico</b>			
Presión aórtica sistólica y diastólica	Presión aórtica central más alta y más baja respectivamente en un pulso cardíaco	SP, DP (PS, PD)	mmHg
Presión de pulso aórtica	Diferencia entre la presión central aórtica máxima y mínima en un pulso cardíaco. Refleja la altura de presión del pulso.	PP	mmHg

<sup>2</sup> Abreviatura: en nomenclatura anglosajona y (española).

Aumento de Presión	Diferencia de presión entre los dos picos durante la eyección cardíaca (sístole). El primer pico (P1) se relaciona con la eyección cardíaca y el segundo (P2) con la onda refleja debida a la rigidez arterial.	AP	mmHg
Presión media	Presión media en un pulso cardíaco	MP (PM)	mmHg
Índice de aumento	Diferencia entre los dos picos durante la eyección, en relación a la altura de la presión de pulso. Es un indicador del reflejo de la onda arterial debido a la elasticidad del sistema arterial.	Aix (IAx)	%

*Tabla 1. Análisis de onda de pulso (PWA). Resumen de los parámetros hemodinámicos calculados con el equipo SpHygmocor At Cor Medical.*

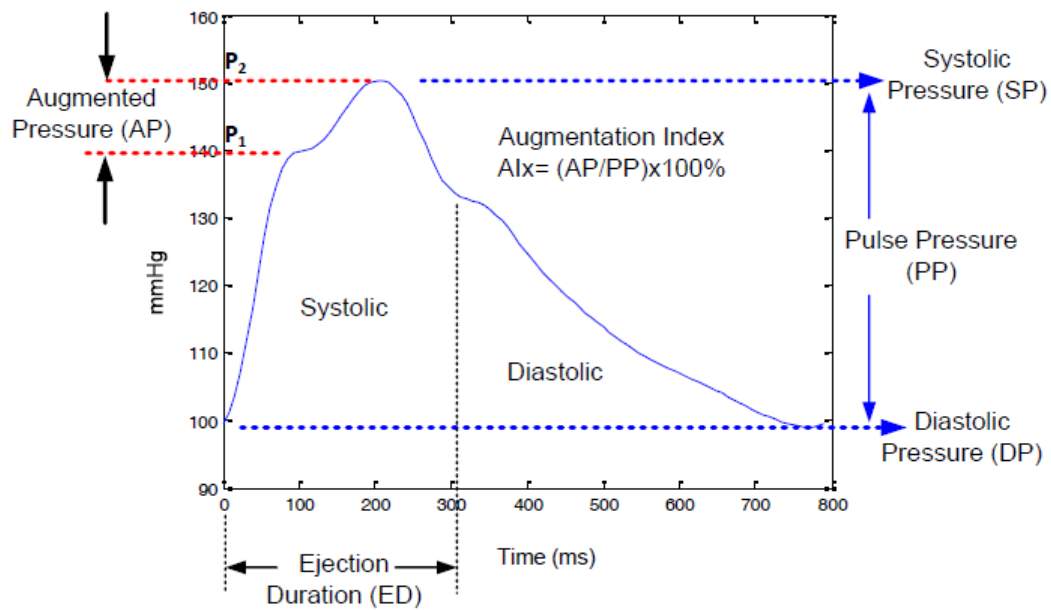


Figura 1. Características del pulso arterial. Diagrama de las medidas de la onda de pulso central.

Parámetro	Fórmula
Presión de Pulso	$PP = SP - DP$ (PP= PS-PD)
Aumento de Presión	$AP = P2 - P1$
Índice de Aumento	$Alx = (AP/PP) \times 100\%$ (IAx = AP/PPx100%)

Tabla 2. Fórmulas matemáticas para el cálculo de los parámetros centrales. Fórmula descrita con nomenclatura anglosajona y (española).

Nota: Tablas y figuras arriba descritas adaptadas de Sphygmocor® Pulse Wave Monitoring System SCOR-Mx. Software Guide: Version 7. 2001 y Sphygmocor® Pulse Wave Monitoring System 2012.

## 8.2. ANEXO II: VELOCIDAD DE ONDA DE PULSO

En la siguiente tabla (tabla 1) se describe la fórmula matemática para el cálculo de la velocidad de onda de pulso (PWV) que hace referencia a la velocidad de la onda de presión a través del árbol arterial.

Parámetro	Fórmula
Velocidad de onda de pulso	$PWV = \text{distancia (m)} / \text{tiempo de tránsito (s)}$

Tabla 1. Fórmula matemática (y unidades) para el cálculo de PWV.

PWV es una medida directa de rigidez arterial, medida en tiempo real. El tiempo de tránsito entre los sitios establecidos (carótida-radial) se determina como la diferencia en los retrasos entre ondas R en el electrocardiograma y el punto de referencia en la onda (fig. 1).

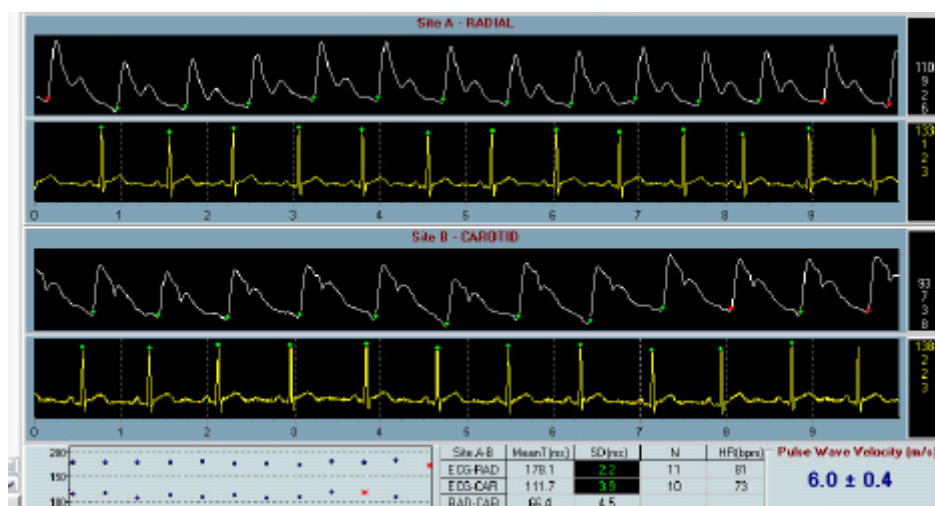


Figura 1. Ejemplo gráfico del cálculo de PWV realizado con Sphygmocor Medical AtCor. Imágenes de captura de la onda radial y carotídea por tonometría y registro electrocardiográfico simultáneo.

Adaptado de Sphygmocor PWx Training. [www.atcormedical.com](http://www.atcormedical.com). Sphygmocor® Pulse Wave Monitoring System SCOR-Mx. Software Guide: Version 7. 2001.

### 8.3. ANEXO III: VFC: RANGOS DE NORMALIDAD PARA VFC AJUSTADOS POR EDAD Y SEXO.

A continuación se adjuntan las tablas -tabla 1-8. Adaptado de Agelink et al, 2001 (189) y Risk et al, 2001 (78)- con los rangos de normalidad ajustados por edad y sexo. En el estudio realizado con el test de respiración normal (en el dominio del tiempo y la frecuencia), respiración profunda (en el dominio del tiempo) y tras la maniobra de bipedestación se considera el 2,5 percentil inferior de sujetos sanos. En el estudio realizado con la maniobra de Valsalva se considera el 5 percentil inferior de sujetos sanos.

Grupos de edad (años)	RMSSD (ms)	Potencia en la banda LF (ms <sup>2</sup> )	Potencia en la banda HF (ms <sup>2</sup> )
15-19	12,24	230	194
20-24	11,07	193	154
25-30	10,01	161	122
30-34	9,05	135	97
35-39	8,18	113	77
40-44	7,39	94	62
45-49	6,68	79	49
50-54	6,04	66	39
55-59	5,46	55	31
60-64	4,94	46	25
≥ 65	4,47	39	20

*Tabla 1. Test de respiración normal. Rangos de normalidad para VFC en mujeres.*



<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>RMSSD (ms)</b>	<b>Potencia en la banda LF (ms<sup>2</sup>)</b>	<b>Potencia en la banda HF (ms<sup>2</sup>)</b>
15-19	16	362	236
20-24	14,22	300	185
25-29	12,63	249	145
30-34	11,22	207	113
35-39	9,96	172	89
40-44	8,85	142	69
45-49	7,86	118	54
50-54	6,98	98	42
55-59	6,20	81	33
60-64	5,51	68	26
≥ 65	4,89	56	20

*Tabla 2. Test de respiración normal. Rangos de normalidad para VFC en varones.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>RMSSD (ms)</b>
15-19	21,47
20-24	19,28
25-30	17,30
30-34	15,54
35-39	13,95
40-44	12,52
45-49	11,24
50-54	10,09
55-59	9,06
60-64	8,13
≥ 65	7,30

*Tabla 3. Test de respiración profunda. Rangos de normalidad para VFC en mujeres.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>RMSSD (ms)</b>
15-19	27,25
20-24	23,76
25-30	20,72
30-34	18,06
35-39	15,75
40-44	13,73
45-49	11,98
50-54	10,44
55-59	9,11
60-64	7,94
≥ 65	6,92

*Tabla 4. Test de respiración profunda. Rangos de normalidad para VFC en varones.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>Ratio Valsalva</b>
15-19	NA*
20-24	1,44
25-30	1,46
30-34	1,47
35-39	1,47
40-44	1,46
45-49	1,44
50-54	1,42
55-59	1,39
60-64	1,35
≥ 65	1,31

*Tabla 5. Maniobra de Valsalva. Rangos de normalidad para VFC en mujeres. \* NA: no aplica, rango etario no incluido en el estudio.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>Ratio Valsalva</b>
15-19	NA*
20-24	1,74
25-30	1,66
30-34	1,58
35-39	1,5
40-44	1,44
45-49	1,38
50-54	1,33
55-59	1,29
60-64	1,25
≥ 65	1,22

*Tabla 6. Maniobra de Valsalva. Rangos de normalidad para VFC en varones. \*NA: no aplica, rango etario no incluido en el estudio.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>Ratio 30:15</b>
15-19	1,104
20-24	1,102
25-30	1,101
30-34	1,099
35-39	1,098
40-44	1,096
45-49	1,095
50-54	1,093
55-59	1,092
60-64	1,090
≥ 65	1,089

*Tabla 7. Maniobra de bipedestación. Rangos de normalidad para VFC en mujeres.*

<b>Grupos de edad (años)</b>	<b>Ratio 30:15</b>
15-19	1,107
20-24	1,105
25-30	1,103
30-34	1,101
35-39	1,099
40-44	1,097
45-49	1,096
50-54	1,094
55-59	1,092
60-64	1,091
≥ 65	1,089

*Tabla 8. Maniobra de bipedestación. Rangos de normalidad para VFC en varones.*