



UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA

MEMORIA DE TESIS:

**PREDICCIÓN DE LA ENFERMEDAD
CARDIOVASCULAR EN PACIENTES
CORONARIOS A TRAVÉS DE UNA ESCALA DE
RECURRENCIA DE EVENTOS CLÍNICOS E
INFLUENCIA DE LA DIETA. ESTUDIO
CORDIOPREV.**

PREDICTION OF CARDIOVASCULAR DISEASE IN CORONARY
PATIENTS BY A CLINICAL EVENT RECURRENCE SCORE AND
THE INFLUENCE OF DIET. CORDIOPREV STUDY.

AUTORA:

MARTA MILLÁN ORGE

DIRECTORES:

JAVIER DELGADO LISTA

PABLO PÉREZ MARTÍNEZ

JOSÉ LÓPEZ MIRANDA

Córdoba, 17 de febrero de 2023

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA

LÍNEA: NUTRIGENÓMICA. INTERACCIÓN GENES-AMBIENTE

TITULO: *Predicción de la enfermedad cardiovascular en pacientes coronarios a través de una escala de recurrencia de eventos clínicos e influencia de la dieta. Estudio CORDIOPREV*

AUTOR: *Marta Millán Orge*

© Edita: UCOPress. 2023
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba

<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es



TÍTULO DE LA TESIS: Predicción de la enfermedad cardiovascular en pacientes coronarios a través de una escala de recurrencia de eventos clínicos e influencia de la dieta. Estudio Cordioprev.

DOCTORANDO/A: MARTA MILLÁN ORGE.

INFORME RAZONADO DEL/DE LOS DIRECTOR/ES DE LA TESIS
(se hará mención a la evolución y desarrollo de la tesis, así como a trabajos y publicaciones derivados de la misma).

D. JAVIER DELGADO LISTA, PROFESOR TITULAR DEL DEPARTAMENTO DE MEDICINA, VICEDECANO DE LA FACULTAD DE MEDICINA Y ENFERMERÍA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA.

D. PABLO PÉREZ MARTÍNEZ, CATEDRÁTICO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA y DIRECTOR CIENTÍFICO DEL INSTITUTO MAIMÓNIDES DE INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA DE CÓRDOBA (IMIBIC).

D. JOSÉ LÓPEZ MIRANDA, CATEDRÁTICO DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE CÓRDOBA, JEFE DE SERVICIO Y DIRECTOR DE LA UGC DE MEDICINA INTERNA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO REINA SOFÍA.

Hacen constar:

Que el trabajo titulado “*Predicción de la enfermedad cardiovascular en pacientes coronarios a través de una escala de recurrencia de eventos clínicos e influencia de la dieta. Estudio Cordioprev*” ha sido realizado por D^a MARTA MILLÁN ORGE, bajo nuestra dirección en el Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), dentro del grupo GC9: Nutrigenómica. Síndrome Metabólico.

Este trabajo ha conseguido un nivel científico de suficiente relevancia como para derivar en la publicación de un artículo en una revista internacional incluida en el primer cuartil (Q1) de su categoría y con un índice de impacto de 4,99:

Millan-Orge M, Torres-Peña JD, Arenas-Larriva A, Quintana-Navarro GM, Peña-Orihuela P, Alcalá-Díaz JF, Luque RM, Rodríguez-Cantalejo F, Katsiki N, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, Delgado-Lista J. Influence of dietary intervention on microvascular endothelial function in coronary patients and atherothrombotic risk of recurrence. Sci Rep. 2021 Oct 13;11(1):20301. doi: 10.1038/s41598-021-99514-3.

A nuestro juicio reúne los méritos suficientes para ser defendido ante el tribunal correspondiente y poder optar al grado de Doctor por la Universidad de Córdoba.

Por todo ello, se autoriza la presentación de la tesis doctoral.

Córdoba, 13 de febrero de 2023

Firma del/de los director/es

DELGADO LISTA
FRANCISCO
JAVIER -
32798806R

Firmado digitalmente
por DELGADO LISTA
FRANCISCO JAVIER -
32798806R
Fecha: 2023.02.13
10:13:01 +01'00'

PEREZ
MARTINEZ
PABLO -
30801943K

Firmado digitalmente
por PEREZ MARTINEZ
PABLO - 30801943K
Fecha: 2023.02.13
12:22:26 +01'00'

LOPEZ
MIRANDA JOSE
- 30477760T

Firmado digitalmente
por LOPEZ MIRANDA
JOSE - 30477760T
Fecha: 2023.02.13
16:48:55 +01'00'

TÍTULO: PREDICCIÓN DE LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR EN PACIENTES CORONARIOS A TRAVÉS DE UNA ESCALA DE RECURRENCIA DE EVENTOS CLÍNICOS E INFLUENCIA DE LA DIETA. ESTUDIO CORDIOPREV.

AUTOR: MARTA MILLÁN ORGE

© Edita: UCOPress. 2023
Campus de Rabanales
Ctra. Nacional IV, Km. 396 A
14071 Córdoba
<https://www.uco.es/ucopress/index.php/es/>
ucopress@uco.es

CONTENIDO

RESUMEN.....	9
ABSTRACT	11
ABREVIATURAS	14
INTRODUCCIÓN	17
1. PREDICCIÓN DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....	17
a. Conocimiento actual sobre enfermedad cardiovascular: epidemiología y factores de riesgo ...	17
b. Escalas de riesgo para la predicción de eventos cardiovasculares	21
2. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ENDOTELIO	28
a. El endotelio sano	28
b. Disfunción endotelial	33
c. Evaluación de la función endotelial.....	34
d. Relevancia clínica de la disfunción endotelial en la enfermedad cardiovascular.....	42
3. INFLUENCIA DE LA DIETA EN LA SALUD CARDIOVASCULAR.....	45
a. Modelos de dieta cardiosaludable.....	45
b. Efectos de una dieta cardiosaludable sobre la función endotelial	50
HIPÓTESIS	54
OBJETIVOS.....	56
OBJETIVO PRINCIPAL	56
OBJETIVOS SECUNDARIOS.....	56
DISEÑO, POBLACIÓN Y METODOLOGÍA	58
1. POBLACIÓN Y DISEÑO DEL ESTUDIO.....	58
2. METODOLOGÍA	61
a. Variables del estudio	61
b. Recogida de datos.....	61
c. Intervención dietética	61
d. Evaluación de la función endotelial	62
e. Clasificación de los pacientes según su riesgo cardiovascular	63
f. Análisis estadístico.....	63
RESULTADOS.....	66
1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN	66
2. ELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA.....	66
3. APLICACIÓN DE LA ESCALA TRS2P	67
4. EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR.....	69

DISCUSIÓN.....	74
1. FUNCIÓN ENDOTELIAL Y ESCALA TRS2P	74
2. EFECTOS DE LA DIETA SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL	76
a. Dieta Mediterránea	76
b. Dieta baja en grasas	78
3. APLICABILIDAD EN LA PRÁCTICA CLÍNICA de NUESTROS resultados	80
4. LIMITACIONES.....	82
CONCLUSIONES	84
CONCLUSIÓN PRINCIPAL.....	84
CONCLUSIONES SECUNDARIAS.....	84
PROYECTOS FUTUROS	86
BIBLIOGRAFÍA.....	88
ANEXO	100
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS.....	104

RESUMEN

ANTECEDENTES: Los individuos que han sufrido un evento cardiovascular tienen un riesgo que oscila entre el 5 y el 20% de padecer un nuevo evento. Actualmente, se están desarrollando diferentes escalas clínicas que tienen la finalidad de identificar a aquellos individuos con un mayor riesgo de nuevos eventos con el objetivo de adoptar en ellos un tratamiento y seguimiento más exhaustivos. Una de las más sencillas y usadas es la escala TRS2P, la cual no ha sido validada en una población como la nuestra. Por otro lado, existen marcadores subrogados que facilitan el estudio de la enfermedad cardiovascular, entre los que se encuentran la función endotelial microvascular. Hasta el momento, no se ha demostrado que la puntuación en la escala TRS2P se correlacione con cambios en marcadores subrogados como este. Nuestra hipótesis de trabajo (H1) es que la escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular a 6 años de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular en pacientes con cardiopatía isquémica que han consumido una dieta cardiosaludable.

OBJETIVOS: El objetivo principal de este trabajo es evaluar si la escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular en pacientes con cardiopatía isquémica de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular tras el consumo de una dieta cardiosaludable. Los objetivos secundarios establecidos fueron: a. Estudiar el efecto del consumo de dos dietas cardiosaludables (dieta mediterránea y dieta baja en grasas) en la evolución de la función endotelial microvascular en pacientes con cardiopatía isquémica; b. Evaluar si existen diferencias en la evolución de la función endotelial microvascular entre los grupos de riesgo establecidos por la escala TRS2P dependiendo de la dieta consumida.

POBLACIÓN, DISEÑO Y METODOLOGÍA: Los pacientes con cardiopatía isquémica incluidos en el estudio Cordioprev se clasificaron en 3 grupos de riesgo de acuerdo con la puntuación obtenida en la escala TRS2P. La función endotelial microvascular se estudió mediante flujometría láser doppler en un total de 664 individuos al inicio y tras 6 años de intervención dietética. La isquemia fue el estímulo elegido para evaluar la reactividad microvascular, la cual fue cuantificada mediante el área de hiperemia reactiva tras la isquemia.

RESULTADOS: Se objetivó que el flujo basal ($97,78 \pm 2,79$ frente a $179,31 \pm 5,06$ unidades de perfusión arbitrarias, aumento del 83,38 %, $p < 0,001$) y el área de hiperemia reactiva (4233,3

$\pm 127,73$ frente a $9695,9 \pm 205,23$ unidades de perfusión arbitrarias por tiempo, aumento del 129,04 %, $p < 0,001$) mejoraron tras la intervención dietética, sin encontrarse diferencias entre los tipos de dieta ($p > 0,05$). Cuando se analizó la evolución de la función endotelial microvascular según el grupo de riesgo, se obtuvo que el flujo basal aumentó de manera similar en los tres grupos ($p=0,47$). El área de hiperemia reactiva mejoró en mayor medida en los pacientes del grupo de bajo riesgo ($4416,6 \pm 193,2$ vs. $10424,59 \pm 308,5$ unidades arbitrarias de perfusión por tiempo) en comparación con los de moderado ($4120,28 \pm 211,9$ vs. $9133,16 \pm 338,3$ unidades arbitrarias de perfusión por tiempo) y alto riesgo ($4073,02 \pm 303,7$ vs. $8995,58 \pm 484,82$ unidades arbitrarias de perfusión por tiempo) con una $p < 0,05$. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la evolución de la función endotelial microvascular entre los grupos de riesgo según la dieta consumida.

CONCLUSIONES: La escala TRS2P tiene la capacidad de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular en pacientes con cardiopatía isquémica de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular tras 6 años de intervención dietética. Además, el consumo a largo plazo de un modelo de dieta cardiosaludable (dieta mediterránea o dieta baja en grasas) mejora la función endotelial microvascular en todos los grupos de riesgo establecidos por la escala TRS2P, sin encontrar diferencias significativas entre ambos tipos de dieta.

ABSTRACT

BACKGROUND: Individuals who have suffered a cardiovascular event have a risk of suffering a new event of between 5 and 20%. Currently, different clinical scores are being developed to identify those individuals with a higher risk of new events to adopt a more comprehensive treatment and follow-up for them. One of the simplest and most widely used is the TRS2P score, which has not been validated in a population such as ours. On the other hand, there are surrogate markers that facilitate the study of cardiovascular disease, including microvascular endothelial function. So far, it has not been shown that the TRS2P score correlates with changes in surrogate markers such as this. Our hypothesis (H1) is that the TRS2P score can establish a 6-year cardiovascular risk gradient according to the evolution of microvascular endothelial function in patients with coronary heart disease who have consumed a healthy dietary pattern.

OBJECTIVES: The main objective of this study was to assess whether the TRS2P score is able to establish a cardiovascular risk gradient in patients with coronary heart disease according to the evolution of microvascular endothelial function after the consumption of a healthy dietary pattern. The secondary objectives were: a. To study the effect of the consumption of two healthy dietary patterns (Mediterranean diet and low-fat diet) on the evolution of microvascular endothelial function in patients with coronary heart disease; b. To assess whether there are differences in the evolution of microvascular endothelial function between the risk groups established by the TRS2P score depending on the diet consumed.

POPULATION, DESIGN AND METHODOLOGY: Patients with coronary heart disease included in the Cordioprev study were classified into 3 risk groups according to the TRS2P score. Microvascular endothelial function was studied by laser Doppler flowmetry in a total of 664 individuals at baseline and after 6 years of dietary intervention. Ischaemia was the stimulus chosen to assess microvascular reactivity, which was quantified by the area of reactive hyperemia after ischemia.

RESULTS: Basal flow (97.78 ± 2.79 vs 179.31 ± 5.06 arbitrary perfusion units, 83.38% increase, $p < 0.001$) and reactive hyperemia area (4233.3 ± 127.73 vs 9695.9 ± 205.23 arbitrary perfusion units per time, 129.04% increase, $p < 0.001$) improved after dietary intervention, with

no difference between diets ($p > 0.05$). When the evolution of microvascular endothelial function was analyzed according to risk group, baseline flow increased similarly in all three groups ($p = 0.47$). The area of reactive hyperemia improved to a greater degree in patients in the low-risk group (4416.6 ± 193.2 vs. 10424.59 ± 308.5 arbitrary perfusion units per time) compared to those in the moderate group (4120.28 ± 211.9 vs. 9133.16 ± 338.3 arbitrary perfusion units per time) and high risk (4073.02 ± 303.7 vs. 8995.58 ± 484.82 arbitrary perfusion units per time) with a $p < 0.05$. No significant differences were found in the evolution of microvascular endothelial function between risk groups according to the diet consumed.

CONCLUSIONS: The TRS2P score can establish a cardiovascular risk gradient in patients with coronary heart disease according to the evolution of microvascular endothelial function after 6 years of dietary intervention. In addition, long-term consumption of a healthy dietary pattern (Mediterranean diet or low-fat diet) improves microvascular endothelial function in all risk groups established by the TRS2P score, with no significant differences found between the two types of diet.

ABREVIATURAS

Ach: Acetilcolina.

ACV: accidente cerebrovascular.

AHR: Área de hiperemia reactiva.

AOVE: aceite de oliva virgen extra.

ASCVD: enfermedad vascular aterosclerótica (*atherosclerotic cardiovascular disease*).

cHDL: colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (*High-density lipoprotein*).

CI: cardiopatía isquémica.

cLDL: colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (*Low-density lipoprotein*).

DBG: dieta baja en grasas.

DBHC: dieta baja en hidratos de carbono.

DietMed: dieta mediterránea.

DM2: diabetes mellitus tipo 2.

EAP: enfermedad arterial periférica.

EDHF: factor hiperpolarizante del endotelio (*Endothelium-derived hyperpolarizing factor*).

eNOs: NO-sintasa endotelial.

FB: flujo basal.

FE μ : función endotelial microvascular.

FEM: función endotelial macrovascular.

FLD: flujometría láser doppler.

FRCV: factores de riesgo cardiovascular.

HTA: hipertensión arterial.

IAM: infarto agudo de miocardio.

MUFA: ácidos grasos moinsaturados (*monounsaturated fatty acids*)

NO: óxido nítrico (*nitric oxide*).

O $_2^-$: anión superóxido.

OH \cdot : radical hidroxilo.

ONOO $^-$: anión peroxinitrito.

PA: presión arterial.

PAT: tonometría de pulso arterial (*Peripheral Arterial Tonometry*).

RCV: riesgo cardiovascular.

ROS: especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species*)

SFA: ácidos grasos saturados (*saturated fatty acids*).

UAP: unidades arbitrarias de perfusión.

UAPT: unidades arbitrarias de perfusión por tiempo.

VMF: vasodilatación mediada por flujo.

INTRODUCCIÓN

1. PREDICCIÓN DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

A. CONOCIMIENTO ACTUAL SOBRE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR: EPIDEMIOLOGÍA, FACTORES DE RIESGO

I. EPIDEMIOLOGÍA

La enfermedad cardiovascular asociada a la arteriosclerosis (*atherosclerotic cardiovascular disease*, ASCVD) es la principal causa de muerte en el mundo. Esta enfermedad puede manifestarse de diferentes formas dependiendo del territorio vascular afectado: cardiopatía isquémica (CI), enfermedad cerebrovascular, enfermedad arterial periférica (EAP) y aneurisma aórtico-torácico o abdominal. La forma más frecuente de ellas es la CI, la cual provoca casi el 50% de las muertes cardiovasculares y el 16% del total de las muertes por cualquier causa a nivel mundial (1).

A pesar de los avances sobre la prevención, diagnóstico y tratamiento de la CI, en los últimos 20 años se ha objetivado a nivel mundial un aumento en el número de muertes secundarias a ASCVD; de 12,1 millones en 1990 a 18,6 millones en 2019. Esto se debe principalmente al aumento de la incidencia de ASCVD en aquellos países que se encuentran en vías de desarrollo, tales como China, India, Federación de Rusia y el este de Europa. A nivel europeo, la prevalencia de CI ha aumentado en los países occidentales debido a una disminución de la mortalidad junto con el envejecimiento de la población. Esta reducción de la mortalidad se ha relacionado con un mejor manejo del evento agudo y con la optimización del tratamiento farmacológico de los principales factores de riesgo (2,3). El aumento de la prevalencia de pacientes con CI conlleva una mayor vulnerabilidad en la población de presentar cualquier evento cardiovascular. El control de los principales factores de riesgo reduce hasta en un 20% la probabilidad de un nuevo evento cardiovascular. De hecho, es en estos pacientes de mayor riesgo donde la relación coste-efectividad es más rentable (2). A pesar de todo, del 5 al 30% de los pacientes presentará un nuevo evento en los siguientes 5 años. Por ello, actualmente, uno de los principales objetivos de las investigaciones en el ámbito de la ASCVD es encontrar nuevas medidas, tanto farmacológicas como dietéticas, que consigan disminuir el riesgo de recurrencias.

II. FACTORES DE RIESGO PARA LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Un factor de riesgo se define como una condición objetiva que se relaciona de forma causal con la aparición de una determinada enfermedad. La identificación de los factores de riesgo cardiovascular (FRCV) comenzó con los primeros resultados obtenidos del trabajo “*The Framingham Heart Study*”, iniciado en el año 1948 y que aún se encuentra en activo. Los principales FRCV identificados por el estudio Framingham y otros trabajos epidemiológicos fueron: edad, sexo masculino, hipercolesterolemia, hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus tipo 2 (DM2) y tabaquismo. Este grupo de factores son los denominados factores de riesgo tradicionales (**tabla 1**) (4). No obstante, a lo largo de las últimas décadas se han identificado otros factores con la intención de mejorar la predicción del riesgo cardiovascular y así optimizar el tratamiento de los pacientes. Estos factores se denominan factores modificadores del riesgo.

Los principales factores modificadores del riesgo mencionados por las últimas guías europeas para la prevención de la ASCVD son: estrés psicosocial, etnia, fragilidad, historia familiar de ASCVD, factores genéticos, bajo nivel socioeconómico, exposición a la contaminación ambiental, biomarcadores sanguíneos o urinarios y composición corporal (5). Los marcadores sanguíneos más estudiados son aquellos que evalúan la presencia de un estado proinflamatorio (proteína C reactiva e interleuquina 6) y otros componentes del metabolismo lipídico, como los triglicéridos, la apolipoproteína A1 y B100, la lipoproteína asociada a fosfolipasa A2 y la lipoproteína(a) (**tabla 1**). No obstante, existen otros muchos marcadores tanto sanguíneos como urinarios que podrían relacionarse con la incidencia de ASCVD(6). Estos factores modificadores del riesgo cobran especial importancia en el grupo de pacientes que son clasificados como bajo o moderado riesgo, ya que su presencia puede ocasionar una reclasificación hacia un nivel de riesgo mayor que implique un manejo terapéutico diferente. No obstante, la causalidad sobre la ASCVD de algunos de estos factores no está tan bien establecida como en los factores de riesgo tradicionales, por lo que este es un campo que se encuentra en continua investigación.

TABLA 1. FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR. ASCVD: enfermedad vascular aterosclerótica (*atherosclerotic cardiovascular disease*). cHDL: colesterol unido a lipoproteína de alta densidad. cLDL: colesterol unido a lipoproteína de baja densidad. IL: interleucina.

FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR TRADICIONALES	
Edad Sexo masculino Tabaquismo Hipertensión arterial	Hipercolesterolemia, ↑cLDL, ↓cHDL Diabetes mellitus tipo 2 Antecedentes familiares de ASCVD
FACTORES MODIFICADORES DEL RIESGO CARDIOVASCULAR	
FACTORES AMBIENTALES Y ESTILO DE VIDA	
Estrés psicosocial Etnia Fragilidad	Nivel socioeconómico bajo Contaminación ambiental Composición corporal
MARCADORES BIOQUÍMICOS	
Proteína C reactiva IL-1, IL-6, IL-18 Moléculas de adhesión vascular y celular	Triglicéridos, lipoproteína (a), apolipoproteína B100 y A1, lipoproteína asociada a fosfolipasa A2 Microalbuminuria/proteinuria
COMORBILIDADES MODIFICADORAS DEL RIESGO CARDIOVASCULAR	
Enfermedad renal crónica Fibrilación auricular Insuficiencia cardiaca Enfermedad pulmonar obstructiva crónica	Hígado graso no alcohólico Enfermedades sistémicas reumatológicas Infecciones crónicas Trastornos del sueño Patología psiquiátrica

En el desarrollo de la ASCVD también se deben tener en cuenta las comorbilidades del paciente, ya que la presencia de determinadas patologías ha demostrado que aumenta el riesgo cardiovascular (RCV). Las entidades clínicas a las que debemos prestar especial atención son: enfermedad renal crónica, fibrilación auricular, insuficiencia cardiaca, cáncer, enfermedad pulmonar obstructiva crónica, infecciones crónicas, enfermedades reumáticas o sistémicas que impliquen un estado proinflamatorio, migraña, alteraciones del sueño y esteatosis hepática no

alcohólica (5). Por lo tanto, para llevar a cabo un correcto abordaje de la ASCVD, no solo hay que centrarse en los FRCV clásicos, sino que se debe hacer un manejo integral del paciente.

III. MARCADORES SUBROGADOS DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Un marcador subrogado es aquel que se elige para sustituir una variable clínica de interés con la finalidad de facilitar el estudio de una determinada patología. En el caso de la enfermedad cardiovascular, una variable subrogada nos permitiría identificar a los pacientes con mayor riesgo de padecer un nuevo evento cardiovascular sin esperar a que éste suceda. Las variables subrogadas deben cumplir una serie de características para poder definirse como tales; deben ser fáciles de medir, tiene que existir una concordancia biológica con la variable de interés, debe tener la capacidad de predecir la evolución de la enfermedad y se debe demostrar que modificaciones por una intervención en la variable subrogada se correlaciona con un efecto sobre la variable clínica de interés (7).

Se han propuesto diferentes marcadores subrogados de ASCVD que evalúan tanto la estructura como la funcionalidad del sistema cardiovascular. Entre los marcadores subrogados de ASCVD estructurales encontramos el grosor íntima-media carotídeo, la hipertrofia del ventrículo izquierdo evaluada mediante ecocardiografía y el calcio arterial coronario detectado mediante tomografía computarizada (8). Los marcadores funcionales más usados son la evaluación de la función endotelial y la elasticidad arterial (9). La función endotelial puede evaluarse en diferentes lechos vasculares y son varias las técnicas disponibles para su estudio. Esto la convierte en uno de los marcadores subrogados más complejos, pero a la vez más completos, a la hora de estudiar la fisiopatología de la ASCVD.

Cada uno de los marcadores nombrados han demostrado en mayor o menor medida que son predictores independientes de ASCVD y que su tratamiento o mejoría se ha correlacionado con una reducción de los eventos cardiovasculares. No obstante, la evidencia en algunos de ellos es contradictoria, probablemente por una falta de protocolización en el método empleado o por la heterogeneidad de la población estudiada. Actualmente, los marcadores subrogados que las guías de prevención de ASCVD recomiendan usar en pacientes con un RCV incierto son el calcio coronario arterial y el grosor íntima-media carotídeo (5).

B. ESCALAS DE RIESGO PARA LA PREDICCIÓN DE EVENTOS CARDIOVASCULARES

I. ESCALAS DE PREDICCIÓN DE EVENTOS CARDIOVASCULARES PARA PACIENTES EN PREVENCIÓN PRIMARIA

Las primeras escalas que se crearon para inferir RCV son las que se utilizan en prevención primaria. Se desarrollaron con la finalidad de disponer de una herramienta sencilla y objetiva que facilitara la toma de decisiones a la hora de iniciar medidas de prevención farmacológica. Estas escalas están compuestas por variables que han sido identificadas como factores de riesgo independientes para ASCVD. Los llamados FRCV clásicos fueron identificados a raíz del trabajo *The Framingham Heart Study*, el cual dio lugar a la escala homónima (*Framingham Risk Score*). Los factores incluidos en esta escala fueron: edad, sexo, DM2, presión arterial (PA) y colesterol total. Inicialmente, esta escala evaluaba el riesgo de padecer enfermedad coronaria en un intervalo de 10 años. En 2008 se desarrolló una nueva versión para predecir el riesgo de enfermedad cardiovascular global, compuesto por enfermedad coronaria, eventos cerebrovasculares, EAP e insuficiencia cardíaca. Esta nueva versión se denomina *Framingham General Cardiovascular disease Risk Profile* (10). Sin embargo, el RCV no es el mismo en todas las poblaciones del mundo, por lo que se han desarrollado escalas que han sido calibradas para distintas áreas geográficas. En Estados Unidos, junto con *Framingham General Cardiovascular disease Risk Profile*, las más usadas son la *Pooled cohort equations* (PCE) y *Reynolds Risk Score* (11). A nivel europeo disponemos de la escala *Systemic Coronary Risk Estimation* (SCORE), de la que encontramos diferentes versiones según el RCV del país. Las nuevas versiones de esta escala (*SCORE2* y *SCORE Older Person*) son las recomendadas por la última versión *ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice* para evaluar el RCV (5). Concretamente en España, se han realizado diferentes calibraciones de *Framingham Risk Score* dando lugar a escalas como *Registre Gironí del cor* (REGICOR) (12). Los factores que incluyen cada una de ellas, los eventos estudiados y las poblaciones en las que han sido desarrolladas pueden consultarse en la **tabla 2**.

TABLA 2. ESCALAS DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN PREVENCIÓN PRIMARIA. ACV: accidente cerebrovascular. ASCVD: enfermedad vascular aterosclerótica (*atherosclerotic cardiovascular disease*). cHDL: colesterol unido a lipoproteína de alta densidad. cLDL: colesterol unido a lipoproteína de baja densidad. DM: diabetes mellitus. EAP: enfermedad arterial periférica. IAM: infarto agudo de miocardio. IC: insuficiencia cardíaca. PA: presión arterial. PAS: presión arterial sistólica. Tto: tratamiento.

	FRS 1998	Framingham General cardiovascular risk profile	PCE	REYNOLDS risk score	SCORE	SCORE2 y SCORE-OP
Población de origen	Estados Unidos	Estados Unidos	Estados Unidos	Estados Unidos	Europa	Europa
Variables demográficas	Edad (30-62 años) Sexo	Edad (≥ 30 años) Sexo	Edad (40-79 años) Sexo Raza	Edad (45-80 años) Sexo	Edad (45 - 64 años) Sexo Área geográfica	Edad (SCORE2 40-69 años. SCORE-OP: 70-90 años) Sexo Área geográfica
Variables clínicas y analíticas	PA DM Colesterol total	PAS Tto antihipertensivo DM Colesterol total cHDL Tabaquismo	PAS Tto antihipertensivo DM Colesterol total cHDL Tabaquismo	PAS Colesterol total cHDL Tabaquismo AF de ASCVD precoz PCR de alta sensibilidad	PAS Colesterol total Tabaquismo	PAS Tabaquismo Colesterol total cHDL cLDL
Tipo de evento estudiado	Muerte por enfermedad coronaria IAM no fatal Angina	Muerte por enfermedad coronaria IAM no fatal Angina IC ACV fatal y no fatal EAP	Muerte por enfermedad coronaria IAM no fatal ACV fatal y no fatal	Muerte cardiovascular IAM no fatal ACV no fatal Revascularización cardíaca	Muerte cardiovascular (Enfermedad coronaria, arritmia, fallo cardíaco, ACVA, aneurisma de aorta y EAP)	IAM fatal y no fatal ACV fatal y no fatal

II. ESCALAS DE PREDICCIÓN DE EVENTOS CARDIOVASCULARES PARA PACIENTES EN PREVENCIÓN SECUNDARIA

Las escalas diseñadas para evaluar el riesgo de ASCVD en prevención primaria no clasifican correctamente a los pacientes que ya han sufrido un evento cardiovascular o a aquellos que presentan otras comorbilidades como DM2, alteraciones genéticas del metabolismo lipídico, insuficiencia renal o HTA no esencial. En un trabajo en el que se aplicaron varias escalas usadas en la prevención primaria a pacientes con ASCVD establecida, se objetivó que infraestimaban el riesgo de padecer un nuevo evento cardiovascular (13). Por otro lado, hay estudios que demuestran que su uso en la población diabética puede tanto sobrestimar como infraestimar el riesgo de ASCVD (14). La versión del año 2021 de *ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice* introduce el concepto de evaluar el RCV residual en los pacientes que ya han presentado un evento cardiovascular. Para facilitar esta evaluación, son necesarias nuevas escalas creadas y validadas en pacientes con ASCVD establecida. Actualmente, hay disponibles al menos 4 escalas que cumplen estas características. Tres de ellas se han desarrollado sobre cohortes observacionales prospectivas de pacientes con ASCVD establecida y la cuarta se creó en el contexto de un ensayo clínico desarrollado en pacientes con CI. Las características de cada una de ellas pueden consultarse en la **tabla 3**.

La primera de las escalas fue la derivada de la cohorte REACH (*The REDuction of Atherothrombosis for Continued Health*), compuesta por pacientes de todo el mundo mayores de 45 años que habían sufrido un evento cardiovascular. Los pacientes fueron incluidos entre diciembre de 2003 y junio de 2004. El modelo predictivo se realizó en los 2/3 de la cohorte, evaluándose la validez interna con el tercio restante. Los factores incluidos en el modelo pueden consultarse en la **tabla 3**. Se crearon dos algoritmos diferentes que evaluaban por separado el riesgo de un nuevo evento y de muerte cardiovascular en los 20 meses siguientes. Los valores de c-statistic para el modelo de predicción de un nuevo evento cardiovascular fue de 0,67 y el de muerte cardiovascular 0,74 (15).

La escala SMART (*Secondary Manifestations of ARterial disease*) se desarrolló usando los datos de la cohorte holandesa con el mismo nombre. Esta escala está diseñada para predecir el riesgo de un nuevo evento cardiovascular en 7 años, clasificando a los pacientes en 5 grupos de riesgo (bajo, moderado, alto, muy alto y extremadamente alto). El cálculo del riesgo se realiza

introduciendo los datos necesarios en una calculadora web. La concordancia estadística obtenida fue de 0,68 (16). La validez externa ha sido evaluada en cohortes de pacientes de diferentes ensayos clínicos (17).

En el contexto de la cohorte EUROASPIRE (*European Action on Secondary and Primary Prevention by Intervention to Reduce Events*), nace el modelo de riesgo homónimo. EUROASPIRE surge con el objetivo de realizar un seguimiento de pacientes con CI y evaluar el grado de implementación de las recomendaciones de la guía Europea de Cardiología. Usando los datos de esta cohorte, se creó un modelo predictivo de RCV incluyendo 8 factores. La validación externa de esta escala se realizó en la cohorte SWEDEHEART, demostrándose una buena discriminación al obtenerse un c-statics de 0,64, que aumentaba hasta 0,68 al excluir del modelo predictivo la revascularización cardiaca (18).

Por último, *Bohula EA et al* elaboraron la escala denominada “*Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Risk Score for Secondary Prevention*” (TRS2P) para identificar aquellos pacientes con ASCVD que presentaban un mayor riesgo de nuevos eventos (19). Estos pacientes pertenecían al ensayo clínico “*Thrombin Receptor Antagonist in Secondary Prevention of Atherothrombotic Ischemic Events – TIMI 50*” (TRA 2ºP-TIMI 50), que evalúa

TRS2P	PUNTUACIÓN
Insuficiencia cardiaca congestiva	1
Hipertensión arterial	1
Edad \geq 75 años	1
Diabetes mellitus	1
Ictus	1
Enfermedad arterial periférica	1
Tasa de filtrado glomerular < 60ml/h	1
Tabaquismo activo	1
PUNTUACIÓN MÁXIMA	9

FIGURA 1. ESCALA TRS2P. *Elaboración propia. Fuente: Bohula et al. Circulation (2016)(19).*

la eficacia de un antagonista del receptor de trombina para prevenir nuevos eventos cardiovasculares en pacientes con infarto agudo de miocardio (IAM) previo (20). En el grupo placebo se identificaron 9 factores que de forma independiente predecían el riesgo de un nuevo evento cardiovascular. Se definieron 3 grupos de riesgo según la probabilidad de presentar un nuevo evento cardiovascular a los 3 años de seguimiento. La escala TRS2P se muestran en la **figura 1**. Esta escala se ha aplicado en la cohorte de pacientes de los ensayos IMPROVE-IT (21), SAVOR (22)

y FOURIER (23). La característica común entre estos estudios es que los participantes se

encontraban en prevención secundaria para ASCVD, con o sin IAM previo. El estudio IMPROVE-IT evaluó la eficacia de la combinación ezetimibe y estatina respecto a placebo en la aparición de eventos cardiovasculares secundarios, mientras que en FOURIER esta eficacia se estudió con el uso de evolocumab. Por otro lado, el estudio SAVOR tenía el objetivo de analizar el efecto cardiovascular de la saxagliptina en pacientes diabéticos tipo 2. A la hora de aplicar la escala TRS2P, el estudio IMPROVE-IT empleó la versión original compuesta por 9 factores (21), mientras que en FOURIER y SAVOR se usó una versión modificada. Esta versión incluía un décimo factor como predictor independiente de eventos cardiovasculares, haber sufrido un IAM previo (22,23). Un aspecto que hay que tener en cuenta de esta escala es que las categorías de riesgo no están estandarizadas, por lo que cada uno de los ensayos define los grupos de riesgo con una puntuación diferente. Las mayores discrepancias las encontramos en el grupo de riesgo cardiovascular intermedio (**figura 2**). No obstante, su aplicación en estas poblaciones confirmó su utilidad para identificar un gradiente de riesgo de nuevos eventos cardiovasculares entre los diferentes grupos de puntuación. De forma paralela, se objetivó que una intervención farmacológica exhaustiva es más eficaz entre los pacientes clasificados como alto riesgo cardiovascular en comparación con el grupo de bajo riesgo (19,21,23). Además, en el estudio IMPROVE-IT y SAVOR se evaluó la concordancia estadística de la escala, obteniéndose un valor de c-statics de 0,67 en ambas poblaciones para el objetivo compuesto

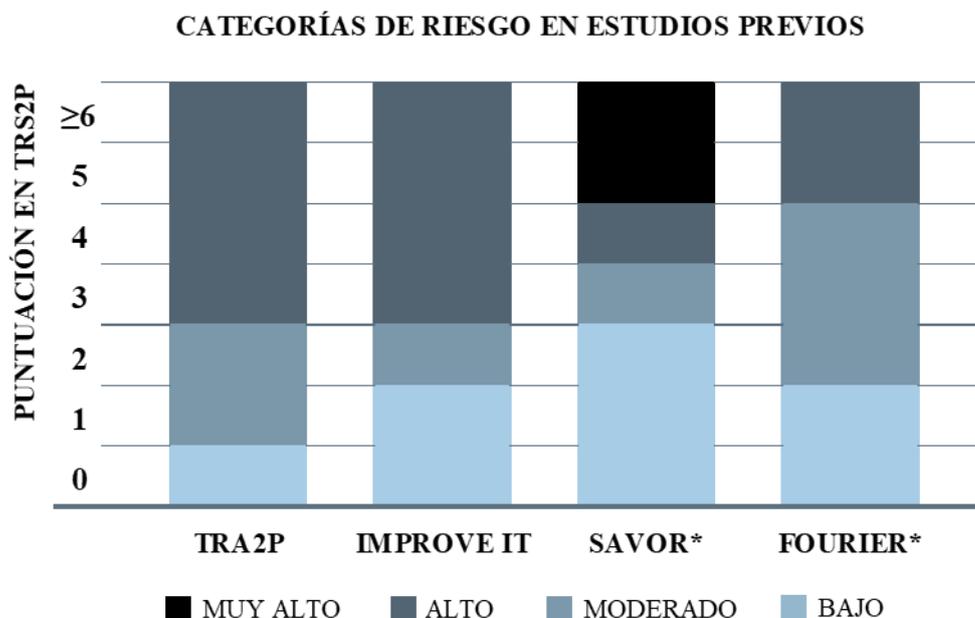


FIGURA 2. DEFINICIÓN DE LAS CATEGORÍAS DE RIESGO PARA LA ESCALA TRS2P EN ESTUDIOS PREVIOS. * Estudios que aplican TRS2P modificada. Los colores indican el riesgo cardiovascular asignado a cada puntuación. *Elaboración propia.*

por muerte cardiovascular/IAM/ictus y de 0,73 para muerte cardiovascular en la población del estudio SAVOR. Por ello, los autores de este último trabajo consideraron que la escala TRS2P es una buena herramienta de predicción de eventos cardiovasculares en los pacientes con DM2 (22). Sin embargo, las poblaciones incluidas en los ensayos clínicos distan mucho de la población real, ya que son pacientes cuidadosamente elegidos, con un seguimiento más estrecho y con menor número de comorbilidades. Este hecho se objetivó en un trabajo en el que se aplicó la escala TRS2P en una población real de Estados Unidos. A pesar de que la incidencia de ASCVD era mucho mayor en esta población en comparación con la observada en el estudio original, la escala mantuvo un poder de discriminación similar (24). La aplicación de la escala TRS2P en poblaciones reales ha demostrado tener también la capacidad de establecer un gradiente de riesgo de nuevos eventos cardiovasculares entre los diferentes grupos de puntuación (24–27).

Todas las escalas nombradas tienen en común varias características. Estudian el riesgo de muerte o evento cardiovascular a medio plazo, tienen en cuenta la presencia de diferentes formas de presentación de la ASCVD y han evaluado su validez externa en otras poblaciones (15–19). De todas ellas, la más sencilla de aplicar es la TRS2P, dado que solo evalúa 9 factores fáciles de acceder y que el cálculo final se realiza con la suma aritmética de los factores presentes en el paciente (19). Quizás por este motivo ha sido la que se ha aplicado en un mayor número de poblaciones diferentes. Su principal limitación es que las categorías de riesgo deben ser calibradas en la población en la que se vaya a aplicar. No obstante, sí que ha demostrado en diferentes contextos que, a mayor puntuación, más riesgo de nuevo eventos cardiovasculares (21–27).

TABLA 3. ESCALAS DE RIESGO CARDIOVASCULAR EN PREVENCIÓN SECUNDARIA. ACV: accidente cerebrovascular. AAA: aneurisma de aorta abdominal. CI: cardiopatía isquémica. cHDL: colesterol unido a lipoproteína de alta densidad. cLDL: colesterol unido a lipoproteína de baja densidad. DM: diabetes mellitus. EAP: enfermedad arterial periférica. FA: fibrilación auricular. IAM: infarto agudo de miocardio. IC: insuficiencia cardiaca. ICC: insuficiencia cardiaca congestiva. IMC: índice de masa corporal. IR: insuficiencia renal. PA: presión arterial. PAS: presión arterial sistólica. Tto: tratamiento

	REACH	SMART	EUROASPIRE	TRS2P
Población de origen	Internacional	Países Bajos	Europa	Internacional
Evento primario	CI, ACV, EAP	CI, ACV, EAP, AAO	Cardiopatía isquémica estable	Cardiopatía isquémica estable
Variables demográficas	Edad Sexo País de origen	Edad	Edad País de origen	Edad ≥ 75 años
Variables clínicas y analíticas	DM, IMC<20kg/m ² , nº territorios vasculares afectados, evento cardiovascular en el año previo, ICC, FA, tabaquismo, tto con AAS, tto con estatinas	PAS, DM, Colesterol total, cHDL, cLDL, PCR, Creatinina, CI, EAP, ACV, AAA, Años desde el 1º evento, Tabaquismo, Tto antiagregante	DM mal controlada, colesterol no-HDL, IR, IC, ictus, EAP, depresión/ansiedad, revascularización cardiaca	DM, IR, IC, EAP, antecedentes de angioplastia coronaria, tabaquismo
Tipo de evento estudiado	Muerte cardiovascular y nuevo evento cardiovascular no fatal en los próximos 20 meses	Nuevo evento cardiovascular en los próximos 7 años	Muerte cardiovascular y Hospitalización por IAM no fatal, IC, revascularización cardiaca o ictus en los próximos 2 años	Muerte cardiovascular, IAM o ictus isquémico en los próximos 3 años

2. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR Y ENDOTELIO

A. EL ENDOTELIO SANO

I. ESTRUCTURA

El endotelio está formado por una capa lineal de células que tapizan todo el sistema cardiovascular, desde los grandes vasos hasta la microcirculación. No es solo una barrera física entre el torrente sanguíneo y los tejidos, sino que juega un papel fundamental en el control del tono vascular e intercambio de moléculas y gases, ayuda a mantener el equilibrio pro-anticoagulante, controla el tráfico de células inflamatorias y regula la angiogénesis. Por lo tanto, es un órgano dinámico y heterogéneo que se encuentra en continua interacción con las células y tejidos circundantes. Además, el endotelio sano tiene la capacidad de adaptarse a las necesidades del lugar y del momento, lo que permite mantener la homeostasis vascular (28).

Las células endoteliales se distribuyen a lo largo de todo el sistema cardiovascular. No obstante, según a qué nivel nos encontremos, las características tanto estructurales como funcionales cambian (29,30). Las arterias de gran calibre conducen la sangre desde el corazón a las arterias de mediano calibre o de distribución. En este nivel las células endoteliales tienen una unión estrecha entre ellas, ya que no se requiere el intercambio de sustancias, sino que se encargan de mantener un flujo continuo a una adecuada presión. Las arterias de distribución son las encargadas de realizar un correcto suministro sanguíneo a los órganos específicos de acuerdo con la demanda funcional. Se siguen de las arteriolas, los denominados vasos de resistencia. Es a este nivel donde se produce un control del flujo hacia el lecho capilar, mediante un correcto equilibrio entre la vasodilatación y la vasoconstricción. Las arteriolas terminales, junto con el lecho capilar y las vénulas postcapilares, forman la microcirculación. A nivel de la microcirculación es donde se produce el intercambio de sustancias con los tejidos. Las necesidades del tejido determinarán el flujo sanguíneo local (29).

Los capilares están compuestos por una capa única de células endoteliales rodeadas de una lámina basal. Dependiendo de las características de ambas estructuras, podemos encontrar 3 tipos de capilares:

- Continuos → las células endoteliales se unen mediante uniones estrechas y su lámina basal es continua. El transporte de líquidos y solutos se realiza a través de formación de

caveolas y mediante pinocitosis. En estos capilares se produce principalmente un intercambio de agua, glucosa, urea y otras moléculas hidrofílicas.

- Fenestrados → el citoplasma de las células endoteliales es discontinuo por la presencia de poros o fenestraciones. No obstante, la lámina basal sigue siendo continua. Son capilares muy permeables al agua y a moléculas hidrofílicas de bajo peso molecular, por lo que permiten la filtración del plasma o el paso de proteínas hormonales.
- Discontinuos → tanto las células endoteliales como su membrana basal son discontinuas. Este tipo de capilares permiten que haya una estrecha relación entre la sangre y los tejidos. Son permeables a moléculas de gran tamaño e incluso a células sanguíneas, dependiente del órgano en el que nos encontremos.

El tipo de capilar predominante en un órgano viene determinado por las funciones de este último. No obstante, podemos encontrarlos de forma simultánea en un mismo órgano, como ocurre en el riñón.

La permeabilidad de las células endoteliales no solo está determinada por la estructura de su citoplasma y su membrana basal. El dominio extracelular de la célula endotelial, denominado glucocálix, también juega un papel crucial. El glucocálix endotelial es una capa formada por glucosaminoglicanos, proteoglicanos y glucoproteínas que recubre a las células endoteliales por su cara luminal. Participan directamente en la adhesión de células circundantes como leucocitos y plaquetas, la regulación de la coagulación y fibrinólisis, la disipación de las fuerzas tangenciales del flujo sanguíneo sobre las células endoteliales y el control de la permeabilidad celular (28).

II. FUNCIONES DEL ENDOTELIO

El endotelio se encarga de mantener la homeostasis vascular. El control del tono vascular es la principal función del endotelio y va a determinar la correcta perfusión de los tejidos de acuerdo con su demanda metabólica en cada momento. Las arteriolas son las que regulan el flujo hacia los tejidos gracias a que mantienen un correcto equilibrio entre la vasodilatación y la vasoconstricción.

Las principales moléculas que intervienen en la vasodilatación son el óxido nítrico (NO) y el factor hiperpolarizante derivado del endotelio (*Endothelium-derived hyperpolarizing factor*, EDHF); mientras que en la vasoconstricción intervienen la endotelina y los prostanoides.

La vasodilatación mediada por flujo es el mecanismo predominante en el control del tono vascular. Este mecanismo está regulado principalmente por la producción de NO. El estímulo desencadenante es la tensión de cizallamiento que genera el flujo sanguíneo sobre las células endoteliales. El NO difunde hacia las células musculares lisas y provoca la dilatación del vaso. No obstante, moléculas como bradicinina, serotonina, factor de crecimiento endotelial y adenosina también estimulan por sí mismas la producción de NO a través de diferentes receptores (**figura 3**). En un segundo lugar, encontramos una vasodilatación independiente del NO que está mediada por EDHF. Su mecanismo de acción solo se conoce parcialmente, pero se cree que juega un papel importante cuando existe una disminución de la biodisponibilidad de NO, sobre todo a nivel de la microcirculación (31).

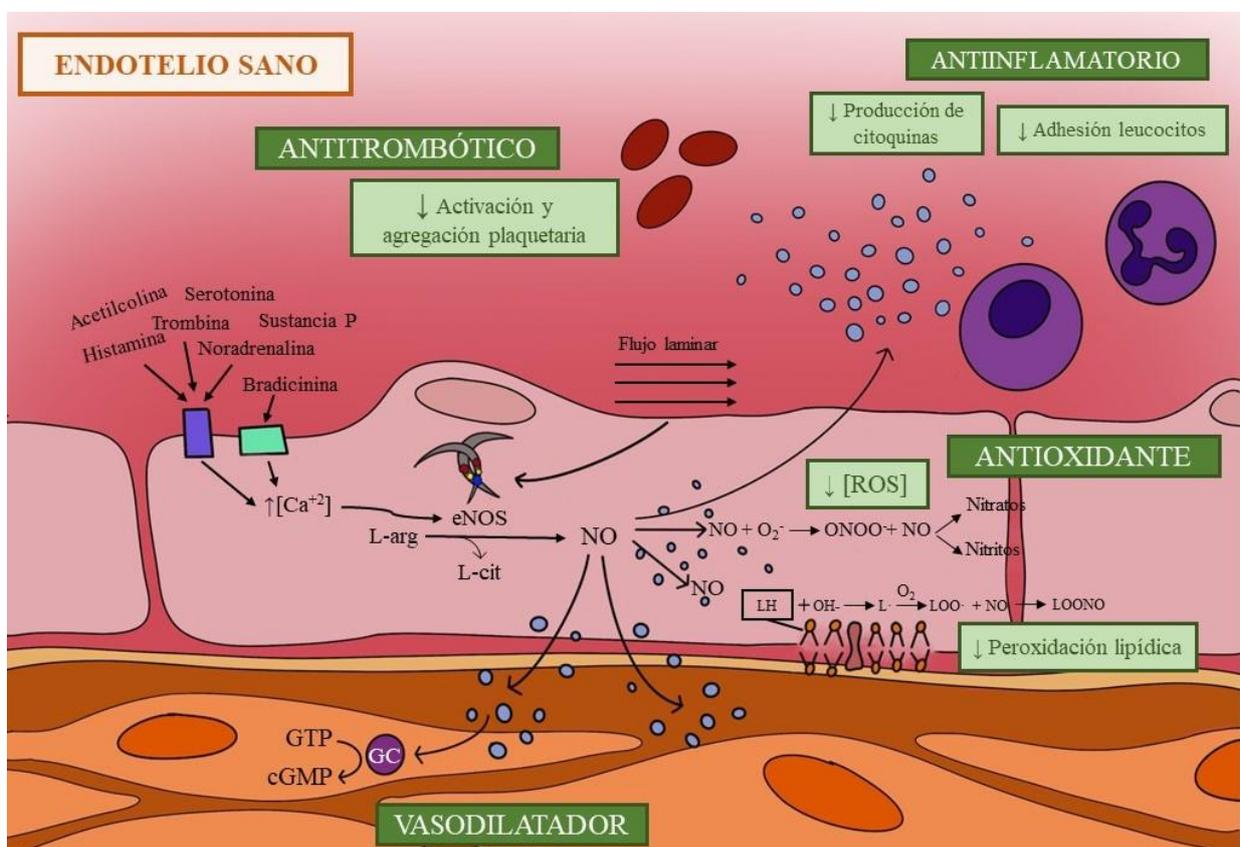


FIGURA 3a. EFECTOS DEL ÓXIDO NÍTRICO EN EL ENDOTELIO SANO. El flujo laminar sobre la célula endotelial y la unión de varias moléculas a receptores específicos, estimulan la producción de óxido nítrico por la nitrato sintasa endotelial. El óxido nítrico tiene múltiples funciones en el endotelio más allá de la vasodilatación. Interviene en mantener el equilibrio antitrombótico y evita la activación y adhesión de leucocitos. Es un importante antioxidante endógeno al unirse al anión superóxido y disminuir su concentración, además de frenar reacciones como la peroxidación lipídica. eNOS: nitrógeno sintasa endotelial. GC: guanilato ciclasa. cGMP: guanosín monofosfato cíclico. GTP: guanosín trifosfato. L·: radical lipídico. LH: lípido insaturado. LOO·: radical peróxido lipídico. LOOH: peróxido lipídico. LOONO: lípido cadena terminal. NO: óxido nítrico. O_2^- : anión superóxido. $OH \cdot$: radical hidroxilo. $ONOO^-$: anión peroxinitrito. ROS: especies reactivas de oxígeno. *Elaboración propia.*

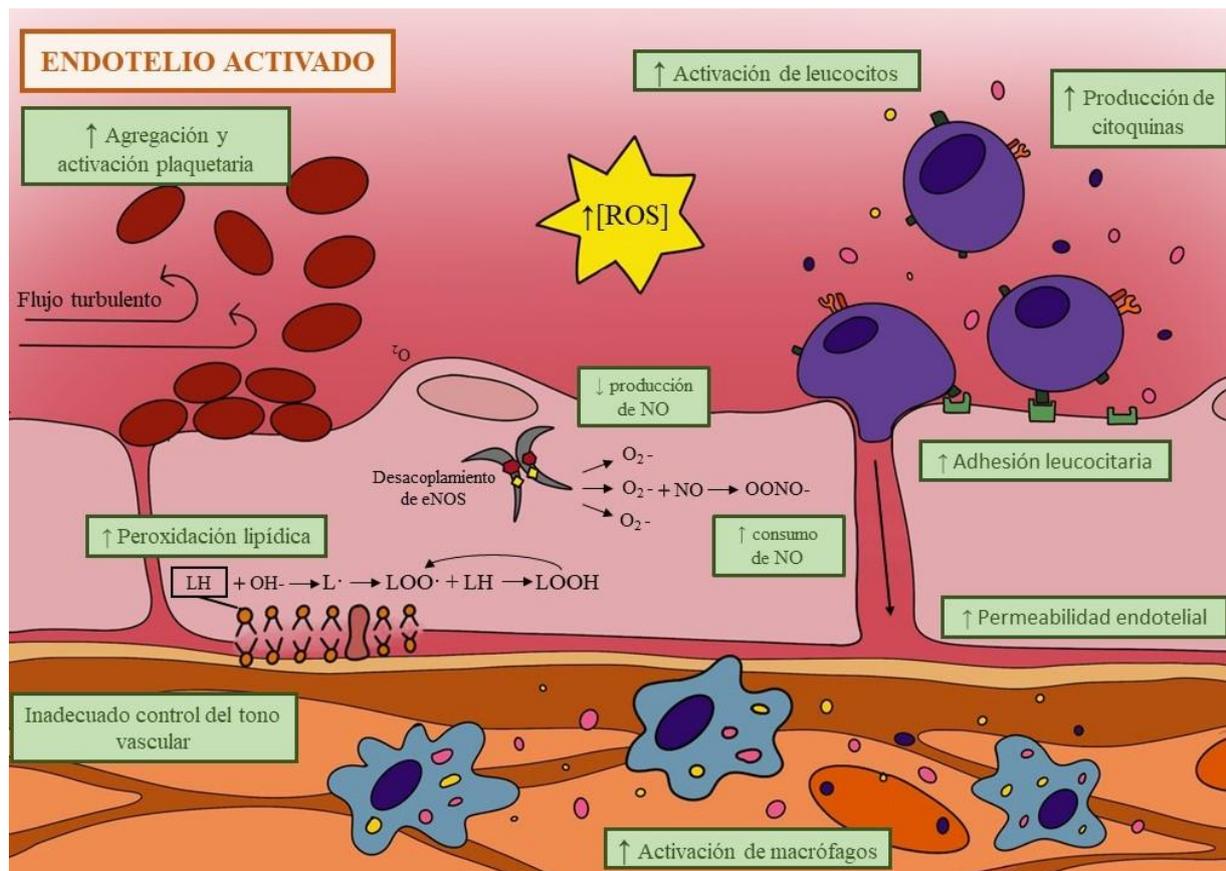


FIGURA 3b. EFECTOS DE LA DISMINUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE OXÍDO NÍTRICO EN EL ENDOTELIO. El aumento de la concentración de especies reactivas de oxígeno produce el desacoplamiento de la nitrógeno sintasa endotelial, que desviará la producción de óxido nítrico a la generación de anión superóxido. La falta de óxido nítrico a nivel endotelial provoca una pérdida de la homeostasis vascular, lo que algunos autores denominan la activación del endotelio. Este estado proinflamatorio provoca un aumento de la activación y agregación plaquetaria, favorece la activación de leucocitos y la producción de citoquinas, además de aumentar la permeabilidad endotelial, lo que favorece el paso de células proinflamatorias al lecho vascular. A nivel de la peroxidación lipídica, la ausencia de óxido nítrico hace que los lípidos con radical peroxilo reaccionen con nuevos lípidos insaturados y generen nuevos radicales, perpetuándose esta reacción. Además, una baja concentración de óxido nítrico impide la generación de productos nitrosados a partir del anión peroxinitrito, lo que aumenta el estrés oxidativo y favorece aún más el desacoplamiento de la nitrógeno sintasa. eNOS: nitrógeno sintasa endotelial. GC: guanilato ciclasa. cGMP: guanosín monofosfato cíclico. GTP: guanosín trifosfato. L·: radical lipídico. LH: lípido insaturado. LOO·: radical peroxilo lipídico. LOOH: peróxido lipídico. LOONO: lípido cadena terminal. NO: óxido nítrico. O₂⁻: anión superóxido. OH·: radical hidroxilo. ONOO·: anión peroxinitrito. ROS: especies reactivas de oxígeno. *Elaboración propia.*

El NO no solo interviene en el control del tono vascular, sino que también es la piedra angular de otras funciones del endotelio como el control de la adhesión celular, la inflamación a nivel vascular y el equilibrio hemostático/trombótico. Por un lado, el NO controla la adhesión de los leucocitos al endotelio por medio de la inhibición de la expresión de p-selectina en la cara luminal de las células endoteliales. Además, disminuye la adhesión y agregación de los

neutrófilos al inhibir la expresión de las moléculas de adhesión β -2. A nivel de los mastocitos, disminuye la producción de mediadores inflamatorios y controla la degranulación de éstos. Incluso actúa modulando la acción de las citoquinas inmunomoduladoras producidas por los macrófagos. Por otro lado, actúa sobre las plaquetas inhibiendo su activación y, por lo tanto, impide la producción de moléculas proinflamatorias que favorecen su agregación y su adhesión al endotelio (**figura 3a**) (32).

El NO también es considerado un antioxidante endógeno. Presenta la capacidad de unirse a especies reactivas de oxígeno (*reactive oxygen species, ROS*) y reducir su acumulación cuando se encuentra en las concentraciones adecuadas. El anión superóxido (O_2^-) es el principal precursor de otras ROS, favorece la activación de los mastocitos y aumenta la permeabilidad del endotelio a células proinflamatorias. La reacción del NO con el O_2^- evita que éste último intervenga en otras reacciones de oxidación avanzada. El resultado de esta unión es otra ROS, el anión peroxinitrito ($ONOO^-$). Si el NO se encuentra en las concentraciones adecuadas, se unirá a $ONOO^-$ para su transformación en especies nitrogenadas (nitratos/nitritos) que no tienen propiedades oxidativas, lo que reducirá el estrés oxidativo del medio (33). El NO también es capaz de limitar la propagación de la peroxidación lipídica. La peroxidación lipídica es una reacción en cadena donde la unión del radical hidroxilo (OH^\cdot) con ácidos grasos polinsaturados produce nuevos lípidos oxidados que alteran la estructura, función y permeabilidad de las membranas celulares del endotelio, además de favorecer la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (*low-density lipoprotein, LDL*). Estas reacciones conllevan una respuesta inflamatoria a nivel endotelial que favorece la migración de leucocitos a la pared vascular, la activación de las células T y la formación de células espumosas, que son mecanismos claves en la fisiopatología de la aterosclerosis (34). La unión del NO al radical peroxilo del lípido oxidado ayuda a evitar que esta reacción se perpetúe en el tiempo, ya que reduce los lugares de unión del OH^\cdot . De esta forma, previene la oxidación de nuevos lípidos y LDL, tanto a nivel de las células endoteliales como en los macrófagos (**figura 3a**). Además, también inhibe de forma directa la acción de la lipoxigenasa, enzima mediadora de la oxidación de lípidos (33).

En resumen, el NO tiene un papel muy importante en el control de la cascada inflamatoria al inhibir a varios niveles la agregación celular, la producción de moléculas proinflamatorias y la generación de ROS (32,33). Por todo ello, la disminución de su biodisponibilidad está estrechamente relacionada con la disfunción endotelial.

B. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL

La disfunción endotelial es la pérdida de la capacidad del endotelio para mantener la homeostasis vascular. Este proceso viene determinado principalmente por una disminución de la biodisponibilidad del NO, que impide el adecuado control del tono vascular y favorece la adhesión y agregación plaquetaria, la proliferación de células lisas musculares y la migración de células proinflamatorias al lecho vascular (**figura 3b**) (31).

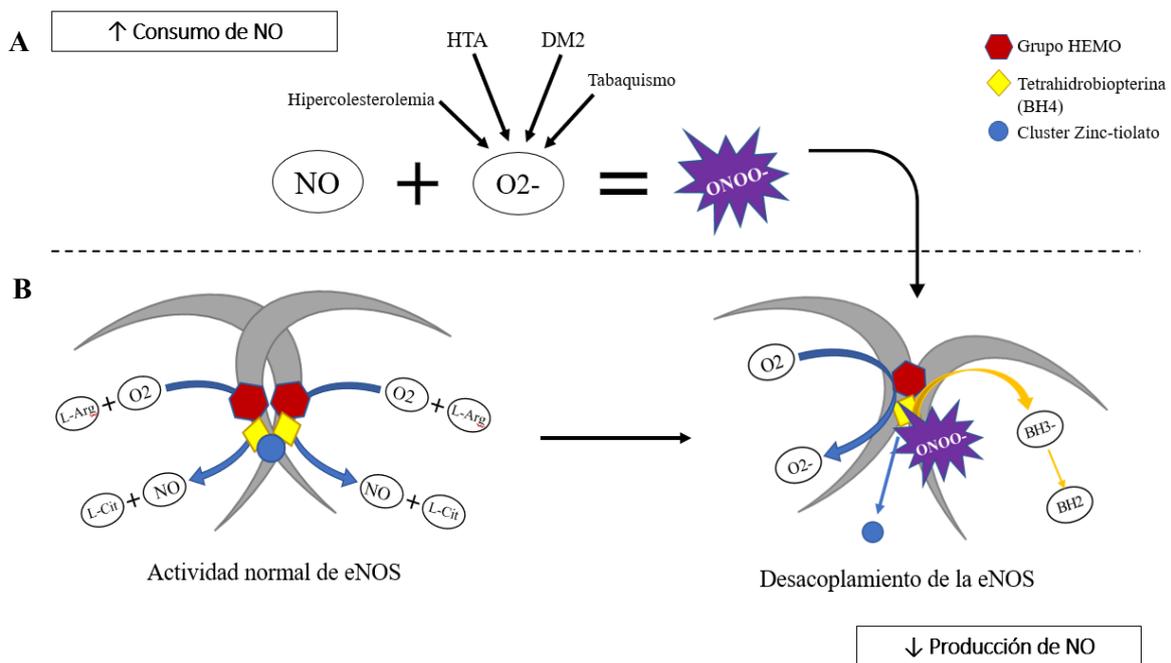


FIGURA 4. MECANISMOS POSTULADOS PARA LA DISMINUCIÓN DE LA BIODISPONIBILIDAD DEL ÓXIDO NÍTRICO. A) La presencia de factores de riesgo cardiovascular promueve el aumento de la concentración de especies reactivas de oxígeno, las cuales se unen con el óxido nítrico para formar peróxido de nitrito. B) Si la enzima óxido-nítrico sintasa no dispone de los cofactores necesarios, entre los que encontramos la tetrahydrobiopterina y el cluster zinc-tiolato, se produce un desacoplamiento de sus dímeros y la producción de óxido nítrico se deriva a la generación de peróxido de oxígeno. Éste se unirá al óxido nítrico circulante, disminuyendo aún más su concentración. *Elaboración propia. Fuente: Förstermann and Münzel, Circulation (2006) (35).*

Una vez que el NO se genera a través de la NO-sintasa endotelial (eNOS), puede llevar a cabo sus múltiples funciones al reaccionar con las células musculares lisas y células sanguíneas circulantes, o puede unirse al O₂⁻ para formar ONOO⁻. En situaciones en las que la cantidad de O₂⁻ no excede a la de NO, esta unión tiene un efecto beneficioso en el control de la producción de otras ROS. No obstante, cuando los niveles de O₂⁻ son altos, se produce un consumo excesivo de NO que conlleva a la formación de grandes cantidades de ONOO⁻. Este ONOO⁻ reacciona con la eNOS y disminuye la disponibilidad de los cofactores necesarios para

la formación de NO. Por lo tanto, la generación de NO por la eNOs se desvía hacia la producción de O₂⁻. Este proceso se denomina desacoplamiento de eNOs (**figura 4**). El desacoplamiento de la eNOs, junto con la degradación acelerada del NO por su unión al O₂⁻, favorecen la disminución de la biodisponibilidad de NO e inducen un entorno prooxidante, proinflamatorio y procoagulante, que conllevan a la disfunción endotelial (35).

Se ha demostrado que la presencia de FRCV se relaciona con un aumento de las concentraciones de ROS y la disfunción endotelial. Además, la disfunción endotelial se ha definido como el primer paso evolutivo en el desarrollo de aterosclerosis, por lo que está íntimamente relacionada con la ASCVD (34).

C. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

La implicación de la disfunción endotelial en el desarrollo de la ASCVD ha generado un gran interés en desarrollar métodos que sean capaces de evaluar la funcionalidad del endotelio. Los objetivos de estas técnicas son conocer mejor la fisiopatología de la aterosclerosis, detectar aquellas situaciones que provoquen un empeoramiento de función endotelial y evaluar el efecto de medidas terapéuticas sobre esta disfunción.

Ludmer et al evaluaron por primera vez la función endotelial en la circulación coronaria por medio de la administración de acetilcolina (ACh) a través de un cateterismo cardíaco hace más de 30 años. La ACh estimula la vasodilatación de forma fisiológica al fomentar la liberación de NO por las células endoteliales sanas. No obstante, en experimentos *in vitro* se observó que provocaba paradójicamente una vasoconstricción en el endotelio dañado. A través de este trabajo se puso en manifiesto que la infusión de ACh en pacientes con CI provocaba una vasoconstricción coronaria, mientras que en individuos sanos producía una vasodilatación. Este efecto paradójico en las arterias ateroscleróticas se debe principalmente a la estimulación directa de los receptores muscarínicos de la célula lisa muscular por la ACh, lo que provoca su contracción (36). Por trabajos como este, las investigaciones actuales acerca de la fisiopatología de la ASCVD están dirigidas a estudiar alteraciones tanto anatómicas como funcionales del endotelio.

En términos generales, el estudio de la función endotelial se basa en la evaluación de la respuesta vasomotora a un estímulo físico o químico. Esta respuesta puede medirse por medio de diferentes métodos y en distintos lechos vasculares. El estudio de la función endotelial se

centró inicialmente en evaluar la circulación coronaria. De hecho, el *gold standard* es la evaluación de la vasorreactividad epicárdica coronaria. A través de esta técnica se evalúa la reactividad de la circulación coronaria a diferentes estímulos por medio de un cateterismo cardiaco. Su carácter invasivo y sus grandes costes han hecho que se busquen alternativas no invasivas más sencillas y baratas para evaluar la función endotelial (37). Actualmente disponemos de varias técnicas para evaluar la función endotelial a nivel periférico en diferentes lechos vasculares, incluso a nivel de la microcirculación. Además, se ha demostrado que los resultados obtenidos a través de algunas de estas técnicas alternativas se correlacionan razonablemente con la función coronaria vascular.

I. VASODILATACIÓN MEDIADA POR FLUJO EN LA ARTERIA BRAQUIAL

La vasodilatación medida por flujo (VMF) es una técnica que evalúa en los vasos de conducción la vasodilatación estimulada por la hipoxia. A través de una sonda de ecografía doppler, se mide el diámetro basal de la arteria braquial y el máximo alcanzado tras un periodo de isquemia. La VMF se expresa como el porcentaje de cambio entre estas dos medidas. La isquemia se provoca inflando un manguito por encima de la PA sistólica durante 5 minutos. Pasado este tiempo, el manguito se desinfla y el aumento brusco del flujo sanguíneo estimula la producción de NO por las células endoteliales. Este aumento del flujo tras la isquemia se denomina hiperemia reactiva (37).

Se ha estudiado la correlación entre la VMF y la circulación coronaria. En un trabajo realizado por *Anderson et al* objetivaron como aquellos pacientes que respondían con vasoconstricción a la infusión intracoronaria de Ach tenían una peor respuesta vasodilatadora periférica evaluada por VMF (38). En un trabajo más reciente se analizó de nuevo esta asociación, pero usando una técnica de VMF más actualizada (39). Los resultados fueron concordantes con los encontrados en el estudio de *Anderson et al* (38). No obstante, ambos trabajos realizaron el estudio en pacientes con lesiones coronarias menores al 50% y sin antecedentes de enfermedad coronaria.

Las principales limitaciones de esta prueba son la falta de un protocolo estandarizado a la hora de su puesta en práctica y la necesidad de un personal entrenado para su realización. No obstante, es el método más extendido para la evaluación de la función endotelial macrovascular (FEM) (37).

II. PLETISMOGRAFÍA DE LA CIRCULACIÓN DEL ANTEBRAZO

La pletismografía del antebrazo evalúa los cambios de volumen del antebrazo secundarios a las oscilaciones del flujo venoso. Esta técnica se basa en el principio de que, si la circulación venosa se encuentra obstruida, hay un aumento del diámetro del antebrazo proporcional al flujo sanguíneo arterial. Para ello, se coloca un manguito de presión en la zona proximal del brazo inflado a 40 mmhg. Un segundo manguito es colocado a nivel de la muñeca inflado a una presión suprasistólica con la finalidad de excluir la circulación de la mano. Los cambios en la circulación arterial se deben a la infusión en la arteria braquial de moléculas vasoactivas o fármacos. El brazo contralateral se usa como control. Las mediciones se expresan como ml/min/100ml de volumen tisular (40).

El uso de esta técnica en pacientes hipertensos ha demostrado que una peor respuesta a la infusión de Ach se relacionó con un mayor número de eventos cardiovasculares (41). Otro trabajo realizado en pacientes con CI estable también demostró que una peor respuesta a la infusión de Ach se relacionaba con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares durante el seguimiento (42).

Este método es poco reproducible, ya que la respuesta depende de la PA inicial, de las medidas anatómicas del antebrazo y de las condiciones ambientales, entre otros parámetros. Este hecho impide que pueda usarse para comparar la respuesta entre individuos y tampoco es útil para realizar controles seriados en una misma persona. Además, no dispone de un protocolo estandarizado para su realización. Por todo ello, actualmente no es uno de los métodos más extendidos para evaluar la función endotelial (40).

III. PLETISMOGRAFÍA DIGITAL

Este método evalúa la función endotelial a nivel de la microcirculación. Su fundamento base es el mismo que la pletismografía de la circulación del antebrazo, pero a nivel del dedo de la mano. Para ello, se coloca una sonda neumática en la falange distal que registra los cambios en la amplitud del pulso arterial a este nivel. En este caso, el estímulo que provoca un aumento del flujo sanguíneo a nivel arterial es la isquemia. El mecanismo por el que se produce la isquemia es similar al empleado en la VMF: se coloca un manguito de presión en el antebrazo y se infla por encima de la PA sistólica durante 5 minutos. La sonda colocada en el dedo detecta como el volumen del pulso disminuye durante el periodo de isquemia y aumenta como

consecuencia de la hiperemia reactiva que se produce al desinflar el manguito. De forma más extendida, este método se denomina RH-PAT (*Reactive Hyperaemia Peripheral Arterial Tonometry*) o endoPAT (*Endothelial Peripheral Arterial Tonometry*) (37,43).

Hay estudios que demuestran una buena correlación entre la función endotelial microvascular (FE μ) evaluada por PAT y la función microvascular coronaria. *Bonetti et al* evaluaron tanto la FE μ a nivel coronario como a nivel periférico en pacientes con dolor torácico sin estenosis coronarias significativas. Como resultados obtuvieron que el grupo de pacientes que manifestaron una respuesta anómala a la Ach a nivel coronario, presentaron una peor respuesta a la isquemia a nivel periférico (44). Por otro lado, también se ha comprobado que los pacientes con CI presentan una peor FE μ a nivel periférico (45) y dentro de estos, la FE μ es peor en aquellos con mayor afectación coronaria (46).

IV. FLUJOMETRÍA LÁSER-DOPPLER

La flujometría láser-doppler (FLD) es un método que evalúa la FE μ a nivel de la circulación cutánea. Esta técnica se basa en los cambios de la longitud de la onda láser cuando ésta golpea a los hematíes en movimiento. Los cambios en la longitud de onda se relacionan directamente con el número y la velocidad de los hematíes. El dispositivo que emite y capta estas variaciones se coloca en el antebrazo o en la falange distal de la mano. Se pueden usar diferentes estímulos para estudiar la respuesta compensadora del endotelio, como por ejemplo la isquemia, el calor y la aplicación de Ach mediante iontoforesis. La respuesta de la microcirculación al estímulo se representa mediante una curva, la cual muestra los cambios en el flujo sanguíneo a lo largo del tiempo. En esta curva encontramos varios parámetros que pueden usarse para analizar la respuesta de la microcirculación. Entre ellos encontramos: flujo máximo alcanzado tras el estímulo, el tiempo hasta el flujo máximo y el área de hiperemia reactiva (AHR) (**figura 4**) (47). No hay consenso sobre qué medida es la que evalúa mejor la FE μ , ya que los resultados de los estudios realizados son contradictorios. Esto se debe probablemente al poco tamaño de muestra que suelen tener estos trabajos y la gran dispersión de las medidas. En el trabajo realizado por *Stiefel et al* se estableció el AHR como el parámetro con mayor sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con CI (48).

Se ha comprobado por medio de diferentes trabajos que la FE μ evaluada mediante FLD se encuentra alterada en pacientes con obesidad (49), HTA (50), prediabetes (51), DM2 (51,52),

hipercolesterolemia (53) y CI (48,54). Sin embargo, hay que tener en cuenta que cada uno de los trabajos usa un estímulo distinto y evalúa la FE μ en diferentes lechos vasculares. Los estímulos que con mayor frecuencia se usan en estos trabajos son la hipertemia y la isquemia. En el caso de la isquemia, la mayoría de los trabajos llevan a cabo las mediciones a nivel del antebrazo.

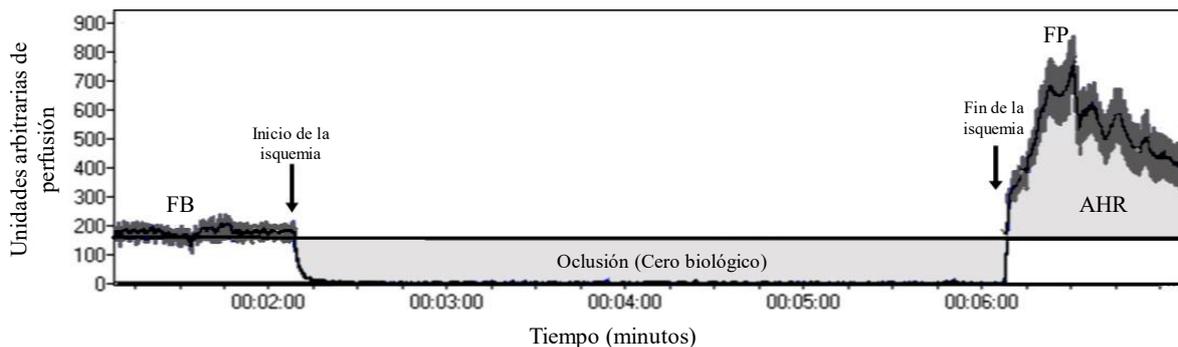


FIGURA 1. EJEMPLO DE REGISTRO DE FLUJOMETRÍA LÁSER DOPPLER. AHR: área de hiperemia reactiva. FB: flujo basal. FP: flujo pico. *Elaboración propia.*

La principal desventaja de la FLD es que su metodología no está estandarizada y que las unidades en las que se expresa sus mediciones son arbitrarias. Esto impide que se pueda extrapolar los resultados obtenidos de una población a otra. Sin embargo, sí que permite cuantificar los cambios en la FE μ en un mismo individuo. Por otro lado, debido a que la perfusión de la piel tiene una alta heterogeneidad, esta técnica tiene mucha variabilidad. Los resultados de FLD se ven influenciados por la PA en el momento de la determinación, la temperatura del lugar, el abuso de alcohol, el tratamiento farmacológico y el tabaquismo. Este inconveniente se podría solventar mediante un protocolo universal de la técnica que estableciera las condiciones en las que se debe encontrar el paciente y la habitación en el momento de la determinación, además de indicar la región anatómica donde medir la respuesta. De hecho, se ha comprobado que la variabilidad es mucho menor cuando la FLD se realiza en la yema del dedo en comparación con el antebrazo (55). Como ventajas encontramos que es una técnica sencilla de aplicar, muy sensible y nos aporta una información dinámica acerca de lo que está ocurriendo a nivel de la microcirculación. Además, los parámetros obtenidos no dependen del observador, como ocurre en el caso de la VMF (47). A pesar de sus limitaciones, la FLD es una prueba barata, no invasiva, sencilla de aplicar e independiente de operador que nos aporta gran información acerca de la FE μ .

Nuestro grupo tiene una amplia experiencia con el uso de la FLD. En todos los trabajos realizados se ha empleado la misma metodología; el individuo permanece en decúbito supino en una habitación con una t^a estable entre 20 y 22°, el flujo microvascular se evalúa en la cara palmar del segundo dedo de la mano dominante y la isquemia es provocada mediante un manguito de presión colocado a 2-4 cm sobre la flexura del codo durante un periodo de 4 minutos (56). El uso de esta técnica nos ha permitido comprobar que portadores sanos de polimorfismos de la eNOS asociados a una mayor prevalencia de ASCVD presentaban una peor FE μ postprandial (57), hecho que se mantenía en pacientes con síndrome metabólico (58). En otro trabajo objetivamos que la presencia de biomarcadores que indican un mayor estrés oxidativo se acompañaba de una menor concentración de NO y una peor FE μ (59). Además, hemos comprobado en varios contextos clínicos que la FE μ postprandial puede verse modificada por el tipo de dieta, de tal forma que una dieta mediterránea (DietMed) o rica en polifenoles mejoran la FE μ postprandial en comparación con dietas ricas en grasas saturadas (56,60–62). Todo ello demuestra que el uso FLD con una metodología estandarizada permite hacer una correcta evaluación de la FE μ , ya que su estudio en diferentes contextos ha aportado resultados concordantes entre ellos.

TABLA 4. MÉTODOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL. ACh: acetilcolina, FEM: función endotelial macrovascular, FE μ : función endotelial

	VASORREACTIVIDAD EPICÁRDICA CORONARIA	VASODILATACIÓN MEDIADA POR FLUJO	PLETISMOGRAFÍA DE LA CIRCULACIÓN DEL ANTEBRAZO	PLETISMOGRAFÍA DIGITAL	FLUJOMETRÍA LÁSER DOPPLER
Invasivo	Sí	No	Sí	No	No
Territorio explorado	Circulación epicárdica (Macrocirculación)	Arteria braquial (Macrocirculación)	Árbol vascular del antebrazo (Microcirculación)	Dedo (Microcirculación)	Piel del antebrazo o de falange distal (Microcirculación)
Ventajas	Evaluación directa de la FEM coronaria	Bajo coste Tiene correlación con la FE epicárdica Método más usado para valorar la FEM	Bajo coste Permite evaluar la relación dosis-respuesta El brazo contralateral sirve de control	Fácil de realizar Independiente del operador Correlación con la FE μ coronaria	Fácil de realizar Independiente del operador Barato Evaluación dinámica de la FE μ
Inconvenientes	Alto coste Invasivo	No dispone de protocolo universal Resultados dependientes del operador	Procedimiento largo Invasivo Poco reproducible	Alto coste por necesitar material desechable Respuesta influenciada por otros factores independientes del endotelio	No dispone de protocolo universal Poco reproducible (antebrazo) No se ha establecido su correlación directa con la FE μ coronaria
Ejemplos de estímulos empleados	ACh, ejercicio	Isquemia	ACh	Isquemia	Isquemia, hipertermia, ACh por iontoforesis

V. ¿EXISTE UNA CORRELACIÓN ENTRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MACRO Y MICROVASCULAR?

Al igual que se ha querido establecer una correlación entre la función endotelial coronaria y la periférica, diferentes trabajos han estudiado la relación entre la función endotelial periférica macro y microvascular. Los resultados obtenidos en estos trabajos no son unidireccionales. En el caso de la VMF y la PAT, su comparación en la cohorte de pacientes del *Framingham Heart Study* mostró que no hay una buena correlación de los resultados obtenidos entre ellas. Además, los factores que se relacionaron con peores resultados en cada una de las técnicas fueron diferentes. Una peor VMF se relacionó con una mayor edad y PA sistólica. En el caso de la PAT, los factores asociados con una peor respuesta fueron el aumento de la ratio colesterol total/cHDL, DM2, el tabaquismo y el tratamiento hipolipemiente. Un aumento del índice de masa corporal se relacionó con unos peores resultados en ambas pruebas (63). Sin embargo, hay trabajos que sí identifican una buena correlación entre las técnicas (46,64). A pesar de ello, *Schnabel et al* también identificaron que la función endotelial microvascular y macrovascular se veían influenciadas por diferentes factores. Concretamente, una peor FE μ se relacionó con la presencia de tabaquismo, glucemia basal alterada, DM2 y antecedentes de ASCVD, factores que no intervinieron en el caso de la FEM evaluada mediante VMF (64).

Los resultados obtenidos en el caso de la FLD no han sido diferentes. *Dhindsa et al* evaluaron la función endotelial macro y microvascular mediante VMF y FLD en una población sana, sin encontrar una correlación entre las técnicas (65). Sin embargo, otro estudio llevado a cabo en 55 pacientes con FRCV, sí que objetivó una fuerte correlación lineal entre los resultados obtenidos por VMF y FLD (66). En la cohorte de *Dhindsa et al*, también se evaluó la relación entre la FE μ medida tanto por FLD como PAT, encontrándose una correlación modesta entre ellas (65). No obstante, hay trabajos que solo encuentran una baja correlación entre ambas técnicas (67).

Las discrepancias entre las distintas técnicas podrían atribuirse a las diferencias encontradas en la metodología de cada uno de los estudios. Estos resultados también sugieren que los vasos de conducción y la microcirculación tienen una fisiopatología distinta, por lo que podrían representar diferentes estadios de enfermedad cardiovascular. Dado que se ha comprobado que los territorios vasculares a nivel periférico se ven influenciados por diferentes

factores, la evaluación de la función endotelial en la macro y microcirculación se deben emplear como técnicas complementarias y no extrapolar los resultados obtenidos entre ambos territorios (37).

D. RELEVANCIA CLÍNICA DE LA DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

La disfunción endotelial es uno de los procesos más importantes en el desarrollo y la progresión de la aterosclerosis. El mal funcionamiento del endotelio se produce principalmente por una falta de biodisponibilidad de NO que induce la adhesión y agregación plaquetaria, la proliferación de células musculares lisas y la migración de leucocitos al lecho vascular. Estos procesos inducen un entorno prooxidante, proinflamatorio y procoagulante. Además, los FRCV clásicos, como la HTA, la DM2, la obesidad y las concentraciones elevadas de cLDL, promueven la producción adicional de ROS, perpetuando esta situación (31). Por lo tanto, la disfunción endotelial se considera actualmente el primer paso de la aterogénesis.

A nivel de la microcirculación, la disfunción endotelial se ha considerado un marcador independiente de eventos cardiovasculares, incluso en ausencia de lesiones coronarias (68). Se cree que la disfunción endotelial microvascular juega un papel fundamental en la fisiopatología de la disfunción diastólica con fracción de eyección preservada, la cardiomiopatía de Takotsubo y otras cardiomiopatías, las cuales se caracterizan por tener resultados normales en la coronariografía (69). Por lo tanto, la isquemia miocárdica se considera el resultado de la suma de la disfunción endotelial a nivel de las arterias epicárdicas y de la microcirculación intramiocárdica (**figura 5**). No hay que olvidar que la disfunción endotelial es un proceso sistémico. La circulación microvascular miocárdica y la cutánea están compuestas por una red de capilares terminales que comparten las mismas características fisiopatológicas. De hecho, disponemos de trabajos en los que se ha objetivado que aquellos pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada (70,71) y CI sin lesiones en el cateterismo (72) tenían una peor FEm que los controles sanos. Por ello, la detección de alteraciones en la microcirculación a nivel de la piel podría ser el reflejo de lo que ocurre a nivel cardíaco.

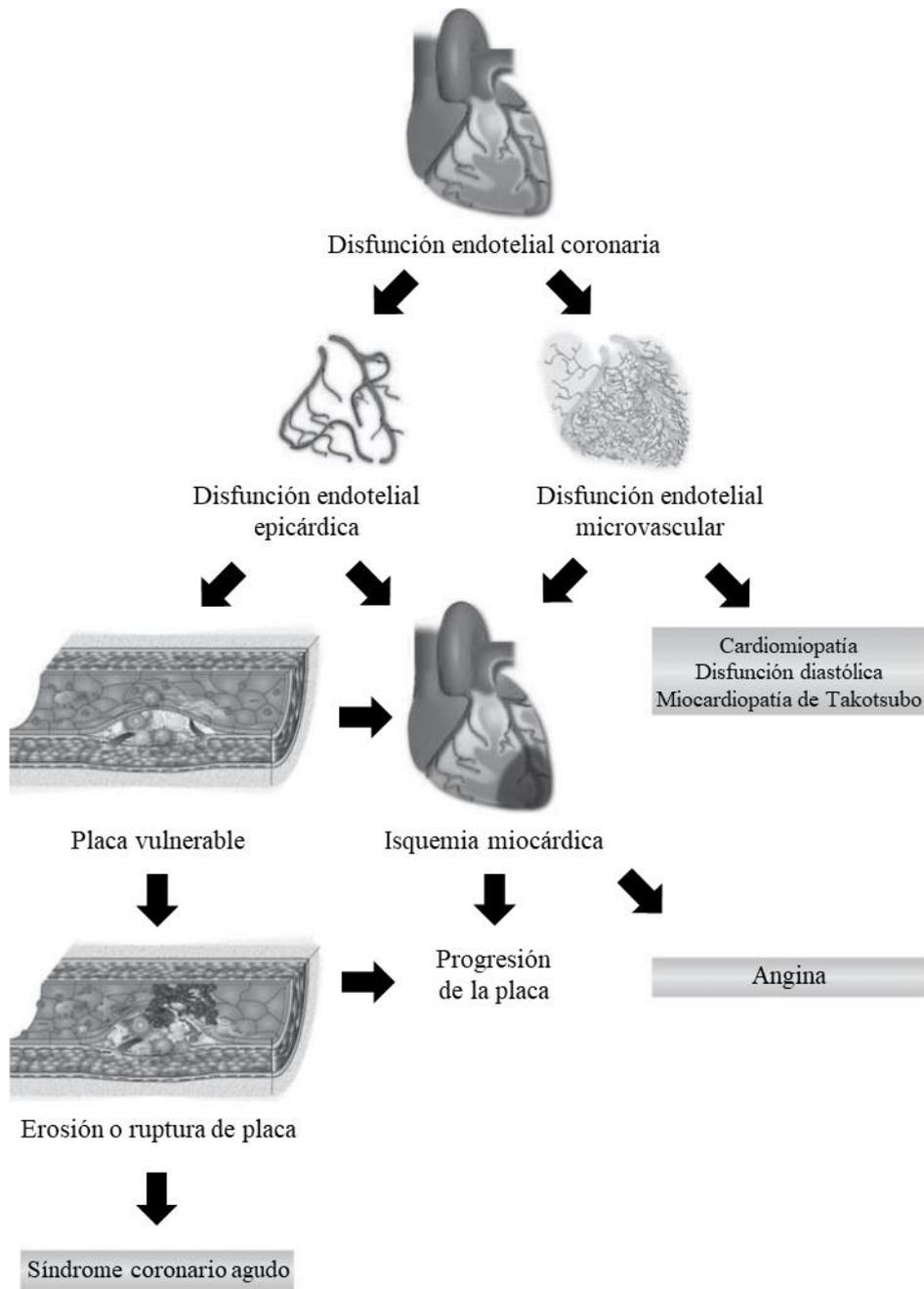


FIGURA 5. DISFUNCIÓN ENDOTELIAL EN LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA. Traducido de: Matsuzawa and Lerman. Coron Artery Dis. (2014) (69).

La función endotelial se ha identificado como marcador subrogado de enfermedad cardiovascular. Diferentes trabajos han objetivado que una peor función endotelial a nivel periférico se correlaciona con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares, tanto en pacientes en prevención primaria como secundaria. Un estudio realizado en 435 sujetos sanos

con bajo RCV mostró que aquellos que presentaron una VMF de la arteria braquial por debajo de la mediana, tuvieron una mayor incidencia de eventos cardiovasculares a los 32 meses de seguimiento. No obstante, se perdía la significación estadística entre los grupos cuando se evaluaba cada uno de los eventos por separado, probablemente por una potencia estadística insuficiente, aunque el valor absoluto siempre fue mayor en el grupo con una VMF menor (73). De la misma manera, trabajos posteriores han demostrado que una mejor VMF de la arteria braquial se relaciona con una menor incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes con HTA (74) y dolor torácico con coronariografía normal (75). Se han obtenido resultados similares en pacientes con ASCVD establecida, manifestada como CI (76), enfermedad cerebrovascular (77) y EAP (78). Estos resultados obtenidos en estudios independientes se han confirmado con metaanálisis posteriores (79,80).

La FE μ también se ha identificado como predictora de eventos cardiovasculares, aunque su estudio en este ámbito no está tan extendido como en el caso de la VMF. La evaluación de la FE μ mediante PAT en 270 pacientes con dolor torácico y ausencia de lesiones coronarias mostró que la incidencia de eventos fue mayor en los individuos con peores resultados, tras una media de seguimiento de 5,8 años. Los eventos considerados fueron: muerte cardiovascular, infarto agudo de miocardio, enfermedad cerebrovascular, necesidad de revascularización coronaria y hospitalización por enfermedad cardiovascular (72). Se obtuvieron resultados similares en un trabajo en el que se evaluó la FE μ en pacientes con alto RCV o CI estable (81). En un análisis realizado en el contexto de *“The Framingham Heart Study”* se observó una menor incidencia de ictus en aquellos pacientes con una mejor FE μ mediante PAT (82). En el caso de la FLD, un estudio prospectivo realizado en un grupo de 105 pacientes hipertensos con enfermedad renal crónica comprobó que el AHR tras la isquemia era un factor predictor independiente del objetivo combinado de muerte y evento cardiovascular tras 66 meses de seguimiento (83). En pacientes diabéticos también se ha comprobado que una menor AHR tras la isquemia es un factor predictor de eventos cardiovasculares (52).

No solo se ha demostrado que una peor función endotelial se relaciona con un aumento de los eventos cardiovasculares, sino que también se ha comprobado que el tratamiento de los FRCV clásicos puede restaurar la función endotelial. A nivel de la macrocirculación, el uso de antihipertensivos y estatinas mejora la FEM en pacientes que se encuentran en prevención primaria (84,85). Incluso se ha comprobado que la ausencia de mejoría de la FEM tras el inicio

del tratamiento se correlaciona con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares durante el seguimiento (84). Estos hallazgos se repiten cuando hablamos de pacientes en prevención secundaria. Un estudio realizado en 251 individuos con CI y VMF alterada, demostró que la optimización del tratamiento farmacológico se tradujo en una mejoría de la VMF en el 59% de los pacientes. Además, se objetivó que aquellos pacientes en los que la VMF no mejoraba, tuvieron una mayor incidencia de eventos cardiovasculares a los 36 meses de seguimiento (86). En el contexto de la microcirculación, se ha comprobado que el tratamiento con estatinas (53), antiagregantes (87), inhibidores de la dipeptidil peptidasa-4 (88) o inhibidores del cotransportador de sodio y glucosa tipo 2 (89) mejoran la FE μ evaluada mediante PAT o LDF.

Las medidas farmacológicas no son las únicas que han demostrado su capacidad para mejorar la función endotelial. El consumo de una dieta cardiosaludable, concretamente la dieta mediterránea, se ha relacionado con una mejoría tanto de la FEM como de la FE μ en diferentes perfiles de pacientes. Este tema se desarrollará de forma más extensa en el siguiente apartado.

La evidencia científica disponible nos muestra que la función endotelial es modulable y que su disfunción es reversible. Por ello, es importante continuar investigando en este sentido, para identificar qué medidas terapéuticas, tanto farmacológicas como higiénico-dietéticas, nos pueden ayudar a mejorar la función endotelial de nuestros pacientes en prevención secundaria y reducir su RCV residual.

3. INFLUENCIA DE LA DIETA EN LA SALUD CARDIOVASCULAR

A. MODELOS DE DIETA CARDIOSALUDABLE

La presencia de diferentes hábitos como el consumo de alcohol, el tabaquismo, la inactividad física y el consumo de ciertas dietas no saludables se ha relacionado con una mayor morbimortalidad de muchas patologías, entre las que se encuentra la ASCVD (90). En las guías para la prevención de dicha ASCVD se recomienda con un nivel de evidencia Ia el consumo de una dieta saludable como piedra angular para su prevención. De hecho, la DietMed es el perfil de dieta recomendado con el máximo nivel de evidencia (5).

I. DIETA MEDITERRÁNEA

La DietMed es un concepto que refleja los hábitos dietéticos presentes en los países de la cuenca mediterránea de forma clásica. Se caracteriza por un alto consumo de frutas,

vegetales, legumbres y cereales integrales. La principal fuente de grasa es el aceite de oliva virgen extra (AOVE), que aporta alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados y otros compuestos minoritarios como los polifenoles, principales responsables de sus propiedades beneficiosas. Otras características de la DietMed son un consumo habitual de pescado y marisco, acompañado de un consumo moderado de vino tinto y lácteos fermentados. Productos como la carne roja, azúcares refinados y grasas saturadas son excepcionales o están ausentes en este modelo de dieta (91).

Una buena adherencia a la DietMed ha demostrado asociarse a una reducción en la mortalidad total e incidencia de ASCVD, manifestada principalmente como enfermedad coronaria. Además, se ha asociado a una reducción en la incidencia de otras patologías como el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas. La DietMed también ha demostrado tener efecto sobre los principales FRCV, concretamente disminuye los niveles de colesterol total, aumenta el cHDL y disminuye la incidencia de DM2 y síndrome metabólico. Estos resultados se han corroborado en diferentes metaanálisis (92). No obstante, también disponemos de ensayos clínicos que evalúan el efecto de la DietMed sobre la salud cardiovascular, tanto en individuos en prevención primaria como secundaria, aunque, como veremos, en ésta última las evidencias no han sido fuertes hasta el desarrollo del estudio Cordioprev.

El ensayo clínico denominado "*The Lyon Diet Heart Study*" evaluó si una DietMed rica en ácido α -linolénico en comparación con la dieta habitual reducía el riesgo de nuevos eventos cardíacos y muerte cardiovascular en 605 pacientes que ya habían sufrido un IAM. En un primer lugar, se realizó un análisis intermedio con una media de seguimiento de 27 meses. En este primer análisis se objetivó una reducción de casi el 70% del objetivo primario compuesto por muerte cardiovascular e IAM no fatal (93). Posteriormente, se amplió la media de seguimiento a 46 meses, obteniéndose un resultado similar en el objetivo primario compuesto (94). Sin embargo, es importante destacar que la "dieta mediterránea" utilizada en el Lyon Diet Heart Study, utilizaba a aceite de canola, que no es una fuente tradicional de grasa en la región mediterránea, por lo que su carácter de "mediterránea" es discutible. Además, el comparador era una "dieta prudente de tipo occidental", y no un comparador saludable (94). Los resultados clínicos del estudio Cordioprev, en el seno del cual se ha desarrollado el presente trabajo, sí que han establecido el efecto beneficioso de la DietMed en prevención secundaria. En este estudio participaron un total de 1002 pacientes con antecedentes de enfermedad coronaria, que

siguieron durante 7 años una DietMed o una dieta baja en grasas (DBG). Al final del periodo de intervención, los pacientes que siguieron la DietMed presentaron una reducción mayor del 25% del riesgo de sufrir re-eventos mayores (IAM, revascularización, arteriopatía periférica, ACV isquémico o muerte cardiovascular) (95).

En prevención primaria, el estudio clínico más conocido es el “*Prevención con Dieta Mediterránea*” (PREDIMED), que comparó el efecto de la DietMed suplementada AOVE o nueces, con una DBG en 7447 individuos con alto riesgo cardiovascular sin ASCVD establecida. El objetivo primario compuesto incluía IAM, ictus y muerte cardiovascular. La mediana de seguimiento fue de 4,8 años. Como resultados obtuvieron una reducción de los eventos cardiovasculares del 30% en comparación con el grupo control. Al analizar cada uno de los componentes del objetivo principal, solo se mostró una disminución significativa en la incidencia de ictus en los grupos intervenidos con DietMed (96). En el año 2018 fue necesario un nuevo análisis de este ensayo al detectarse errores en la aleatorización de los participantes en 2 de sus 11 centros colaboradores. Este nuevo análisis obtuvo resultados similares en el objetivo primario (97). A pesar de los resultados obtenidos en cada uno de los ensayos por separado, en un metaanálisis en el que se incluyeron ambos ensayos clínicos, los autores llegaron a la conclusión de que la evidencia científica disponible hasta ese momento era incierta acerca del efecto de la DietMed sobre los eventos cardiovasculares y los FRCV. Los autores establecían la principal causa de esta falta de evidencia en la escasa disponibilidad de ensayos con eventos clínicos durante el seguimiento. No obstante, sí que hacen referencia a los resultados positivos obtenidos en los estudios observacionales y la plausibilidad biológica de los beneficios de la DietMed sobre la salud cardiovascular (98). Sin embargo, este metaanálisis no incluye los resultados cardiovasculares recientemente publicados del estudio Cordioprev, donde se encontró una reducción del riesgo relativo cercano al 25% de presentar un evento cardiovascular cuando se consume una DietMed frente a una DBG (95). Asimismo, quedan por publicar los resultados del “*The AUStralian MEDiterranean Diet Heart Trial*” (AUSMED Heart Trial), ensayo que estudia el efecto de la DietMed en individuos australianos con CI (99).

II. OTROS MODELOS DE DIETA CARDIOSALUDABLES

Una de las dietas más estudiadas en el ámbito de la ASCVD es la DBG. Este modelo de dieta nace en los años sesenta cuando se identificó que una dieta rica en grasas saturadas aumentaba los niveles séricos de cLDL, lo que se relacionaba con un aumento de la incidencia

de ASCVD (100). A raíz de ello, sociedades como “*U.S. Department of Agriculture*” y “*U.S. Department of Health and Human Services*” orientaron sus recomendaciones en las “*Dietary Guidelines for American*” a disminuir el porcentaje de grasas de la dieta y sustituirlas por hidratos de carbono. El objetivo principal de esta recomendación era reducir el aporte de cLDL y así disminuir la incidencia de ASCVD. Por lo tanto, desde los años sesenta hasta inicio de los 2000, se promovía una DBG aunque eso implicara un aumento de la cantidad total de hidratos de carbono refinados (101). A principios del siglo XXI, la publicación de diferentes metaanálisis hizo cambiar la visión acerca de las recomendaciones dietéticas. Se demostró que una reducción en la proporción de grasas saturadas mediante su sustitución por grasas poliinsaturadas reducía la incidencia de ASCVD, pero cuando eran reemplazadas por hidratos de carbono inespecíficos este efecto no se constataba (100). En la “*Dietary Guidelines for Americans*” del año 2005, el consumo recomendado de grasas pasó de ser <30% al 20-35% y se comenzó a distinguir entre los diferentes tipos de grasas. De esta forma, se alentó con mayor énfasis a disminuir el consumo de grasas saturadas a través de su sustitución por grasas poli y monoinsaturadas (101). En el año 2010, estas guías añadieron un apartado denominado “Patrones de dietas saludables” y por primera vez se le dio más importancia a la calidad que a la cantidad de la grasa.

Son muchos los estudios que han evaluado el efecto sobre la ASCVD de una DBG o la modificación del tipo de grasa. Una revisión Cochrane del año 2017 analizó los resultados de 48 ensayos clínicos que comparaban un modelo de DBG o la modificación del tipo de grasa con una dieta control. No encontraron diferencias en cuanto a la mortalidad total y cardiovascular entre los grupos estudiados. Sin embargo, sí que obtuvieron que la reducción o la modificación de las grasas de la dieta reducía la incidencia de ASCVD en un 14%. En los diferentes subanálisis, se obtuvo que esta reducción venía determinada por la modificación del tipo de la grasa de la dieta y no por su reducción aislada. Además, la reducción de ASCVD se produjo principalmente en el grupo de pacientes con un RCV moderado o alto y no en la población general (102).

La tendencia actual es recomendar patrones de dieta saludables, dejando a un lado aquellos consejos que se centraban en el porcentaje de macronutrientes que debían consumirse. Además de la DietMed, ya comentada anteriormente, existen otros patrones de dieta en los que se ha estudiado su efecto sobre la ASCVD (103):

- *Dietary approaches to stop hypertension (DASH)* → dieta caracterizada por un alto consumo de productos de origen vegetal, fibra y alimentos ricos en potasio, calcio y magnesio, junto con un bajo consumo de grasas. Ha demostrado ser eficaz en el control de la PA, mejorar el perfil lipídico y reducir la mortalidad cardiovascular.
- Dieta portfolio → diseñada para el mejorar del perfil lipídico, por lo que se centra en el consumo de 4 alimentos que han demostrado reducir las cifras de colesterol: frutos secos, proteínas derivadas de la soja, fibras solubles (avena, cebada) y fitoesteroles. Además de su efecto sobre el perfil lipídico, ha demostrado disminuir la concentración de marcadores proinflamatorios y el RCV.
- Dieta vegetariana → el centro de la alimentación son los productos de origen vegetal. En caso de consumir proteínas de origen animal, siempre se hará a través de productos derivados, como la leche o el huevo, pero nunca directamente del consumo de carne, pescado o marisco. Este modelo de dieta ha demostrado mejorar el perfil lipídico y reducir la mortalidad por enfermedad coronaria.
- Dieta nórdica → se caracteriza por el alto contenido de grasas derivadas del consumo de pescado azul, principalmente salmón. Otros alimentos básicos en esta dieta son los productos lácteos bajos en grasas, frutas, almendras, frutos del bosque y fibra de *psyllium*. No hay evidencias robustas acerca de un beneficio sobre el RCV.
- Dieta baja en carbohidratos → su principal beneficio es la pérdida de peso. Se caracteriza por un contenido de hidratos de carbono por debajo del 26% del total de las calorías ingeridas. A cambio de ello, se aumenta el consumo de proteínas y grasas, aunque estas últimas sean grasas saturadas. Su efecto sobre el perfil lipídico es controvertido. Además, no se ha demostrado beneficio sobre la ASCVD.

Las recomendaciones actuales de la “*American Heart Association*” no se centran en reducir el contenido total de grasas de la dieta, sino en cambiar las grasas saturadas por poliinsaturadas o monoinsaturadas. Además, aconsejan que este cambio venga acompañado de un patrón de dieta saludable que se caracterice por un alto consumo de fruta, verdura y grano integral. Ejemplos de modelos de dieta que cumplen estos requisitos y que por lo tanto recomiendan, son la dieta DASH y la DietMed (104).

B. EFECTOS DE UNA DIETA CARDIOSALUDABLE SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

La función endotelial no solo es modulable a través de medidas farmacológicas, tal y como se ha descrito en párrafos anteriores, sino que también se ha comprobado que el consumo de una dieta saludable puede mejorar la función endotelial. A continuación, se revisará la evidencia disponible acerca del efecto de la DietMed y la DBG sobre la función endotelial.

I. DIETA MEDITERRÁNEA

La DietMed ha mostrado en diferentes trabajos que mejora la función endotelial tanto a nivel macro como microvascular. *Davis et al* estudiaron el efecto de la DietMed en comparación con la dieta habitual en 82 individuos sanos mayores de 64 años. Como resultados obtuvieron que el consumo de DietMed durante 6 meses mejoraba de forma significativa la función endotelial evaluada mediante VMF (105). Otros trabajos han objetivado este beneficio en pacientes con obesidad abdominal (106), DM2 (107) e hipercolesterolemia (108). En todos ellos, la media de seguimiento osciló entre 1-6 meses y el tamaño muestral no superaba el centenar en la mayoría de los trabajos. La DietMed también ha demostrado que es capaz de mejorar la FEM en pacientes con ASCVD establecida. *Torres-Peña et al* compararon el efecto de la DietMed y la DBG sobre la función endotelial en 805 pacientes con CI. Tras 1,5 años de seguimiento, se objetivó una mejoría de la VMF de la arteria braquial en los pacientes diabéticos y prediabéticos que habían sido intervenidos con DietMed (109).

El estudio del efecto de la DietMed en el ámbito de la microcirculación está menos extendido. Además, el hecho de que se dispongan de varias técnicas para evaluar la FE μ hace más difícil la comparación de los resultados. Las técnicas más usadas en este ámbito son la PAT y la FLD. La mayoría de los trabajos valoran el efecto de la DietMed a corto plazo, concretamente en el periodo de 4 a 12 semanas, y en pacientes sin ASCVD establecida (110). *Ruano et al* demostraron que el consumo de una DietMed durante 4 semanas mejora la FE μ postprandial, estudiada mediante FLD, en pacientes con hipercolesterolemia (56). Usando esta misma técnica, *Valls et al* también obtuvieron esta mejoría en pacientes con HTA leve (111). En ambos trabajos, la FE μ mejoró aún más en aquellos individuos que consumieron una DietMed enriquecida con polifenoles. Por otro lado, también se ha estudiado el efecto de la DietMed sobre la FE μ asociada a otras medidas higiénico-dietéticas como el ejercicio físico.

La combinación de ambas medidas ha demostrado mejorar la FE μ en mayor proporción que cada una de ellas por separado, tanto en personas sanas mayores de 65 años como en pacientes con síndrome metabólico (112,113). Por lo tanto, disponemos de evidencia que demuestra que la DietMed tiene un efecto beneficioso sobre la FE μ . No obstante, todos los trabajos revisados se han llevado a cabo en una población libre de ASCVD, por lo que es necesario evaluar el efecto de la DietMed en ese contexto.

II. DIETA BAJA EN GRASAS

Los beneficios de la DBG sobre la función endotelial son controvertidos. La mayoría de los estudios se limitan a evaluar la FEM en pacientes obesos sin ASCVD establecida. El principal objetivo de estos estudios es analizar el efecto de la pérdida de peso sobre la función endotelial. La mayoría de ellos comparan la DBG con una dieta baja en hidratos de carbono (DBHC). Por un lado, se ha objetivado que el consumo durante 6 semanas de una DBG en pacientes obesos produjo una mejoría de función endotelial estudiada mediante VMF, mientras que aquellos que consumieron una DBHC sufrieron un deterioro de su función endotelial. Ambos grupos de intervención objetivaron una reducción significativa del peso (114). Este beneficio de la DBG también se ha objetivado en pacientes diabéticos tras 3 semanas de intervención (115). En este trabajo, la DBG se comparó con una dieta muy baja en hidratos de carbono. Al igual que en el estudio previo, aunque ambos grupos de intervención experimentaron una reducción significativa del peso, solo el grupo intervenido con DBG tuvo una mejoría de la VMF. Sin embargo, *Mohler et al* no encontraron diferencias al evaluar la función endotelial a los 3, 6, 12 y 24 meses tras el consumo de una DBG o DBHC en pacientes obesos sin comorbilidades (116). Del mismo modo, el trabajo realizado por *Wycherley et al* tampoco encontró diferencias significativas en la evolución de la función endotelial de pacientes diabéticos que consumieron una DBG o DBHC durante 12 meses (117), al igual que aquellos que habían seguido una DBG en el contexto del estudio Cordioprev (109).

Respecto a la FE μ , la evidencia derivada de técnicas como la FLD o PAT es escasa. Disponemos de un trabajo que ha estudiado *in vitro* el efecto sobre la microcirculación de dos tipos de DBG en pacientes obesos. La FE μ se evaluó mediante una biopsia del tejido adiposo subcutáneo, donde se midió la reactividad microvascular en la 1^o y 6^o semana de intervención. Los estímulos usados fueron diferentes gradientes de presión, para recrear la vasodilatación mediada por flujo, y la infusión de Ach a concentraciones crecientes. Se identificó una mejoría

de la vasorreactividad en los participantes cuya DBG había sido diseñada para perder peso, mientras que se mantuvo estable en aquellos con una DBG isocalórica (118). Se ha demostrado que los resultados de esta técnica se correlacionan con los obtenidos en otras como VMF y PAT (119).

En resumen, aunque los resultados obtenidos en las distintas series son discrepantes, la mayoría de los trabajos reportan un efecto beneficioso o neutro de la DBG sobre la función endotelial. No obstante, un alto porcentaje de los estudios se han realizado sobre una población libre de ASCVD, por lo que el efecto de la DBG sobre la función endotelial en pacientes con ASCVD establecida podría ser diferente y debe ser estudiada.

HIPÓTESIS

La prevalencia de ASCVD ha aumentado en los últimos años debido a una mejoría de su manejo terapéutico en el momento agudo y crónico, el establecimiento de protocolos y guías de práctica clínica con un mayor esfuerzo en el control de los factores de riesgo y a la mayor esperanza de vida de la población. Sin embargo, el riesgo de padecer un nuevo evento cardiovascular en los pacientes con ASCVD sigue siendo mayor que en la población general, con una incidencia estimada entre el 25 y el 35% a los 7 años. Identificar a los pacientes en prevención secundaria con mayor riesgo de sufrir un nuevo evento cardiovascular sería útil para instaurar en ellos medidas más exhaustivas tanto de tratamiento como de seguimiento. Actualmente, se están estudiando diferentes escalas para distinguir a estos pacientes. Una de las más sencillas y usadas es la escala TRS2P, la cual aún no ha sido validada en una población como la nuestra. Por otro lado, disponemos de diferentes marcadores subrogados que nos facilitan el estudio de patologías como la ASCVD al presentar una evolución más rápida que el evento clínico de interés. Uno de ellos es la función endotelial microvascular. Tampoco se ha comprobado si la puntuación en la escala TRS2P se correlaciona con cambios en marcadores subrogados como este. Por ello, creemos interesante estudiar la capacidad de la escala TRS2P de identificar, según la evolución de la función endotelial microvascular, a los pacientes con CI con mayor riesgo de nuevos eventos cardiovasculares. Este análisis se llevará a cabo en el contexto del estudio Cordioprev, lo que también nos da la oportunidad de estudiar el efecto de la DietMed y la DBG sobre la función endotelial en pacientes con cardiopatía isquémica.

Nuestra hipótesis de trabajo (H1) es que la escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular a 6 años de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular en pacientes con cardiopatía isquémica. De esta forma, esperamos que los pacientes clasificados como bajo riesgo tengan una mejor evolución de su función endotelial microvascular que los clasificados como alto riesgo.

La hipótesis nula (H0) será que la evolución de la función endotelial microvascular es independiente de los grupos de riesgo establecidos por la escala TRS2P.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Evaluar si la escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular en pacientes con cardiopatía isquémica incluidos en el estudio Cordioprev de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular a los 6 años del inicio de la intervención.

OBJETIVOS SECUNDARIOS

- a) Estudiar el efecto de dos dietas cardiosaludables (DietMed y DBG) en la evolución de la función endotelial microvascular en pacientes con cardiopatía isquémica.
- b) Evaluar si existen diferencias en la evolución de la función endotelial microvascular entre los grupos de riesgo establecidos por la escala TRS2P dependiendo de la dieta consumida.

DISEÑO, POBLACIÓN Y METODOLOGÍA

1. POBLACIÓN Y DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio Cordioprev (NCT00924937) es un ensayo clínico aleatorizado que incluye a hombres y mujeres de entre 20 y 75 años con enfermedad coronaria estable en los últimos 6 meses. Los participantes fueron identificados entre 2009 y 2012. Los criterios de inclusión y exclusión del ensayo clínico pueden consultarse en la **tabla 5**. Este ensayo se diseñó con el objetivo de evaluar el efecto de dos dietas cardiosaludables (DietMed y DBG) para prevenir la incidencia de nuevos eventos cardiovasculares en pacientes con ASCVD establecida. Se incluyeron un total de 1002 pacientes, los cuales fueron aleatorizados a recibir una de las dos dietas. El protocolo completo de este ensayo puede consultarse en la siguiente referencia bibliográfica (120). Los resultados definitivos se han publicado recientemente (95).

TABLA 5. CRITERIOS DE SELECCIÓN DEL ESTUDIO Cordioprev. *Versión traducida al español.* Delgado-Lista et al. Am Heart J. (2016) (120)

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Consentimiento informado: Todos los participantes aceptarán su inclusión en el estudio, firmando el protocolo aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Reina Sofía. En dicho consentimiento se hará constar que su inclusión en los grupos tendrá carácter aleatorio.

2. Criterios diagnósticos: Se seleccionarán pacientes con enfermedad coronaria aguda (angina inestable, infarto agudo de miocardio) y enfermedad coronaria crónica de algo riesgo, de acuerdo con los siguientes criterios:

- a) **Infarto agudo de miocardio:** Existencia de, al menos, dos de las tres manifestaciones siguientes: dolor torácico de características anginosas (o equivalentes anginosos), cambios típicos del electrocardiograma (aparición de nuevas ondas Q y/o cambios del segmento ST y/o onda T), y elevación de las enzimas miocárdicas (CPK y/o CPK/MB > 2 veces el límite superior normal del laboratorio. El criterio del valor de la MB prevalecerá, en caso de discrepancias, sobre el de la CPK total.
- b) **Angina inestable:** Ingreso hospitalario por dolor torácico de características anginosas de al menos 15 minutos de duración, tanto en reposo como tras el esfuerzo, que se haya incrementado en frecuencia y duración en los últimos días o semanas. El último episodio debe haber ocurrido en las 48 horas previas

Continúa

al ingreso y debe acompañarse de, al menos, una de las siguientes alteraciones electrocardiográficas o analíticas:

- a. Descenso del ST de, al menos, 0,5 mm en 2 derivaciones contiguas.
 - b. Ascenso del ST de, al menos, 1 mm en 2 derivaciones contiguas.
 - c. Inversión de la onda T de, al menos, 2 mm en 2 derivaciones contiguas
 - d. Troponina positiva.
- c) **Cardiopatía isquémica crónica de alto riesgo:** Se incluirán aquellos pacientes que hayan estado ingresados por un evento coronario y/o angina estable, al menos una vez en los 2 años precedentes y que hayan sido sometidos a una coronariografía diagnóstica con evidencia de enfermedad coronaria severa, definida como la existencia de un vaso epicárdico mayor de 2.5 mm de diámetro con estenosis superior al 50%.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Edad inferior a 20 años o mayor de 75 años, con una expectativa de vida que no sea inferior a 5 años.

2. Insuficiencia cardíaca severa, clase funcional III o IV de la NYHA, con la excepción de episodios autolimitados de insuficiencia cardíaca aguda en el momento del evento isquémico agudo.

3. Disfunción ventricular izquierda sistólica severa (Con fracción de eyección igual o inferior a 35%).

4. Pacientes con limitación para seguir el protocolo: Se excluirán las personas sin capacidad personal o familiar de adscribirse a la dieta indicada, por cualquier causa.

5. Factores de riesgo graves o de difícil control: Se excluirán los enfermos con hipertensión y diabetes en los que haya afectación orgánica que limite su supervivencia (insuficiencia renal crónica con creatinina persistentemente >2.5 mg/dl) y manifestaciones clínicas incapacitantes de arteriosclerosis cerebral.

6. Enfermedades crónicas no relacionadas con el riesgo coronario: Enfermedades psiquiátricas severas, procesos crónicos necesitados de tratamiento que pueda modificar el metabolismo lipídico (insuficiencia renal crónica, hepatopatías crónicas, neoplasias en tratamiento, enfermedad pulmonar obstructiva crónica con insuficiencia respiratoria pulmonar con oxigenoterapia domiciliaria, endocrinopatías susceptibles de descompensación y enfermedades del tubo digestivo que cursen con episodios de diarrea).

7. Participantes en otros estudios: Se excluirán a los pacientes participantes en otros estudios, en el momento de la selección o en los 30 días previos al comienzo del estudio.

El presente trabajo está realizado en el contexto del ensayo clínico Cordioprev. Los pacientes incluidos son aquellos en los que se evaluó la FE μ por medio de FLD al inicio y a los 6 años de seguimiento. El diagrama de flujo se detalla en la **figura 6**.

El protocolo del estudio Cordioprev fue aprobado por el comité de ética local, de acuerdo con la declaración de Helsinki y las buenas prácticas clínicas. Todos los pacientes

mostraron su conformidad para participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

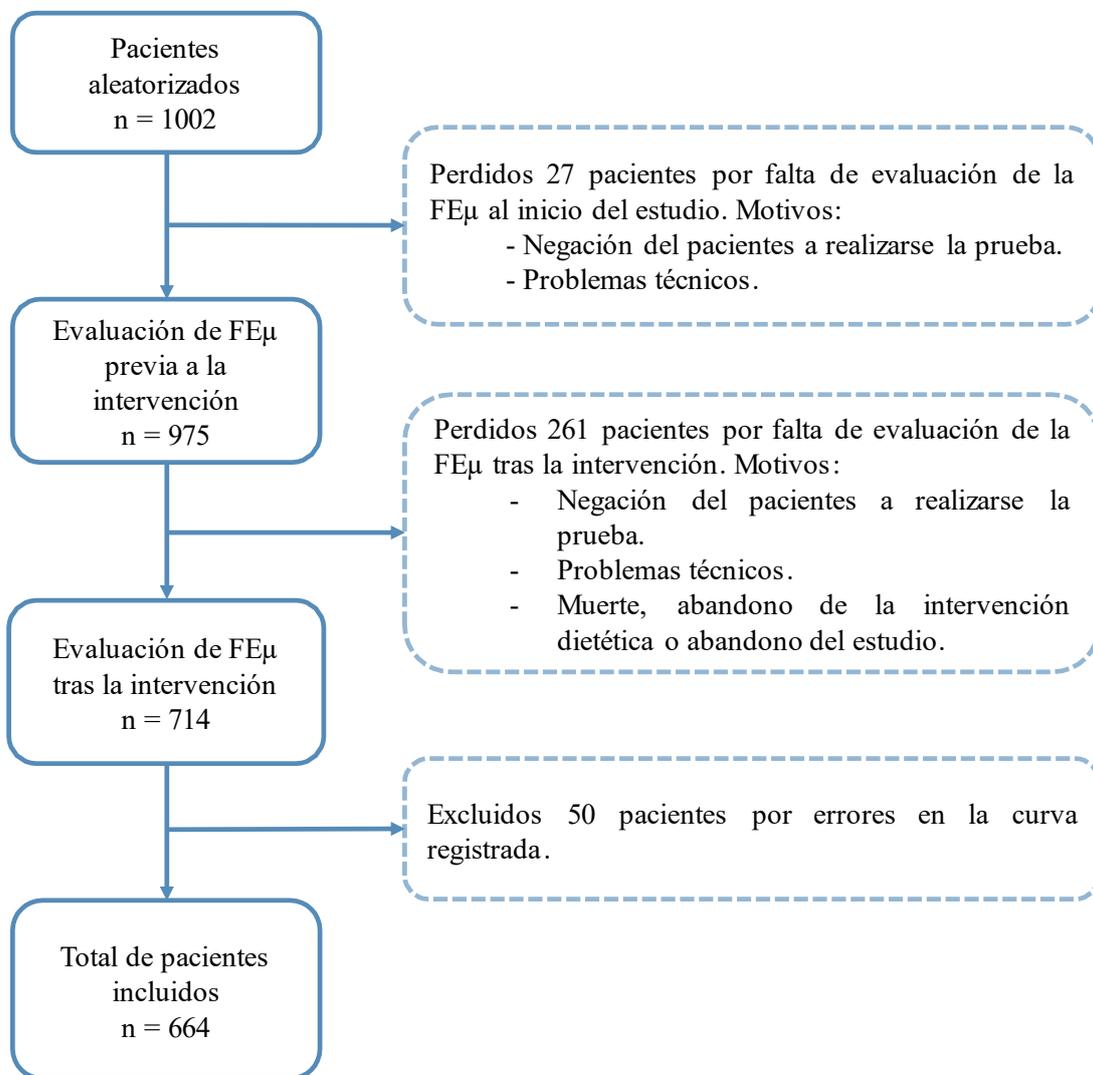


FIGURA 6. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA SELECCIÓN DE PACIENTES. FEμ: función endotelial microvascular.

2. METODOLOGÍA

A. VARIABLES DEL ESTUDIO

Las variables recogidas durante el transcurso de este estudio son aquellas que se han considerado necesarias para cumplir el objetivo principal y poder describir a la población. Todas las variables empleadas y su correspondiente descripción se pueden consultar en el **anexo 1**.

Las variables necesarias para cumplir los objetivos son aquellas que forman parte de la escala TRS2P, los resultados obtenidos en evaluación de la FE μ mediante FLD y el grupo de dieta al que pertenecían los pacientes. También se han recogido aquellas variables que se han considerado necesarias para el ajuste de covariables de las pruebas estadísticas, como puede ser el tratamiento habitual al inicio del estudio.

B. RECOGIDA DE DATOS

Los participantes del estudio Cordioprev fueron incluidos entre 2009 y 2012. Las variables basales se recogieron a través de una entrevista clínica y la revisión de la historia clínica electrónica de los pacientes. Posteriormente, los datos necesarios para este trabajo fueron tomados de la base de datos a lo largo del cuarto trimestre de 2018.

C. INTERVENCIÓN DIETÉTICA

Los participantes fueron aleatorizados a recibir DietMed o DBG. Ambos modelos de dietas promueven el consumo de fruta, verdura, cereales, legumbres, derivados lácteos, pescado y carne no procesada. La principal diferencia entre ellas es el porcentaje de grasas total y la fuente de estas. No hubo restricción calórica en ninguno de los dos grupos.

La DietMed se caracteriza por consumir al menos el 35% de las calorías en forma de grasas, de las cuales el 22% serán monoinsaturadas, 6% poliinsaturadas y menos del 10% provendrán de las grasas saturadas. La principal fuente de grasa es el aceite de oliva virgen extra. El porcentaje restante de calorías provienen de las proteínas (15%) y carbohidratos (50%). En el caso de la DBG, el porcentaje de grasas es menor al 30%, con un menor contenido de grasas monoinsaturadas (12-14% del total) y similar porcentaje de poliinsaturadas (6-8%) y saturadas (<10%). El porcentaje de calorías derivadas de la ingesta de carbohidratos es al menos

del 55%, con similar consumo de proteínas (15%). Ambos modelos de dieta se ajustaron para que el consumo total de colesterol diario fuera menor de 300mg. Sin embargo, debemos tener en cuenta que el objetivo del estudio no es comparar el efecto entre las dietas determinado por el porcentaje de macronutrientes, sino evaluar dos patrones dietéticos diferentes.

Los participantes de ambos grupos de dieta tuvieron un seguimiento estrecho por parte de los dietistas. Se realizaron entrevistas personales semestrales y sesiones grupales cada 3 meses. En estas sesiones grupales se les aportaba información acerca de los alimentos típicos de su modelo de dieta, listas de la compra con alimentos de temporada, recetas y ejemplos de menús. La adherencia a cada una de las dietas se midió al inicio de la intervención y durante la misma. Se usó un cuestionario acorde a la dieta asignada, el cuestionario de 14 ítems para evaluar la adherencia a la DietMed (MEDAS) y el cuestionario de 9 ítem, usado en el estudio PREDIMED (96), en el caso de la DBG. Los consejos de los dietistas iban enfocados a aumentar la adherencia al grupo de dieta asignada. No se les promovió a realizar ejercicio físico de forma específica. Por otro lado, los participantes asignados a la DietMed se les entregó de forma gratuita 1 litro de aceite de oliva virgen extra por semana. En el caso de la DBG recibieron diferentes packs de comida en los que se incluían componentes de este modelo de dieta.

D. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

Para este estudio, la FE μ se evaluó mediante FLD (Periflux 5000, Perimed SA) al inicio y a los 6 años de intervención. La FLD evalúa la circulación cutánea microvascular en tiempo real a través de un sensor láser colocado en la cara palmar del segundo dedo de la mano dominante. Antes del inicio de la prueba, el paciente permanecía en decúbito supino en una habitación con una temperatura estable de entre 20 y 22°. El estímulo usado para estudiar la FE μ fue la isquemia. Esta se produjo mediante un esfigomanómetro colocado entre 2-4 cm por encima de la flexura del codo que se infló hasta una presión suprasistólica (200-220 mmHg) durante 4 minutos. Pasado este tiempo, el manguito era desinflado de forma brusca. El sensor colocado en el dedo captaba las variaciones del flujo sanguíneo microvascular durante todo el proceso y los representaba en una curva que quedaba guardada. De los datos que aportaba la gráfica generada, se extrajeron el flujo basal (FB), medido en el minuto previo a la isquemia, y el área de hiperemia reactiva (AHR), que fue registrada durante 1 minuto tras la finalización de la isquemia. El FB es expresado como *unidades arbitrarias de perfusión* (UAP) y el AHR como *unidades arbitrarias de perfusión por tiempo* (UAPT).

E. CLASIFICACIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN SU RIESGO CARDIOVASCULAR

Se aplicó la escala TRS2P en todos los pacientes incluidos en este estudio, obteniéndose una puntuación total entre 0 y 9 puntos. Para ello, la presencia de cada uno de los factores se cuantificó como 1 punto (**figura 1**). La puntuación total se obtuvo con la suma aritmética de cada uno de los factores presentes en un mismo individuo.

Actualmente, los grupos de riesgo según la puntuación obtenida en la escala TRS2P no están establecidos de forma universal. Cada uno de los autores que ha aplicado esta escala ha usado su propia distribución (**figura 2**). Por ello, a la hora de clasificar a los participantes en diferentes grupos de riesgo, se buscó la población más similar a la nuestra entre los ensayos clínicos que habían usado la escala TRS2P. Una vez identificada esta población, se usó la misma distribución de puntuación para definir los grupos de riesgo. La metodología usada para ello se detalla en el siguiente apartado.

Los participantes fueron clasificados en tres grupos de riesgo para nuevos eventos cardiovasculares: bajo (0-1 punto), moderado (2 puntos) y alto (≥ 3 puntos).

F. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

I. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

La descripción de variables cuantitativas se realizó por medio de media \pm desviación estándar. En aquellas variables que no siguieron una distribución normal se añadió la mediana. Esta comprobación se llevó a cabo por medio de la prueba estadística Shapiro-Wilk. Las variables cualitativas se han descrito por medio de porcentajes.

II. APLICACIÓN DE LA ESCALA TRS2P

Los factores que componen la escala TRS2P se han elaborado a partir de las variables recogidas en la base de datos del estudio Cordioprev. Para ello, las variables tanto cuantitativas como cualitativas fueron transformadas en variables dicotómicas. Los valores posibles fueron 0 y 1, que se corresponden con la ausencia o presencia del factor respectivamente. La puntuación final de la escala TRS2P se ha obtenido con la suma aritmética del valor de cada variable. Los pacientes han sido agrupados según la puntuación final. Para

describir la distribución de cada uno de los componentes de la escala TRS2P en cada grupo de riesgo, se usaron las pruebas estadísticas chi-cuadrado y Montecarlo.

III. IDENTIFICACIÓN DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA

Las comparaciones entre nuestra población y la de los estudios de referencia se han realizado teniendo en cuenta la versión de la escala empleada y las categorías de riesgo definidas por los estudios. Para ello, se han usado los datos publicados.

En un primer lugar, los pacientes del estudio Cordioprev fueron agrupados según la distribución de puntuación de la población con la que se quería comparar. Posteriormente, se comparó el porcentaje de pacientes respecto al total que había en cada grupo de riesgo entre la población del estudio Cordioprev y la cohorte elegida. Se consideró que la población más similar a la nuestra sería aquella en la que no hubiera diferencias significativas en el porcentaje de pacientes en cada grupo de riesgo. Para facilitar el análisis, se unieron los grupos de moderado y alto riesgo, ya que el beneficio del tratamiento intensivo en los ensayos clínicos previos ha sido el mismo en estos grupos. Las comparaciones se realizaron a través de tablas de contingencia 2x2 contrastadas por medio de la prueba estadística chi-cuadrado.

IV. OBJETIVOS PRIMARIO Y SECUNDARIOS

A la hora de evaluar si había una mejoría significativa de la FE μ (FB y AHR) tras la intervención dietética, se usó la prueba T-student para variables pareadas. Posteriormente, para estudiar la evolución de la FE μ según el grupo de riesgo establecido por la escala TRS2P y el efecto de la dieta asignada, se usó la prueba ANOVA para medidas repetidas y comparaciones múltiples post-hoc usando la prueba de Bonferroni. Los datos se expresarán como media \pm error estándar. Todos los análisis fueron ajustados por género y tratamiento al inicio de la intervención. Los fármacos incluidos para el ajuste fueron: estatinas, betabloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y los antagonistas de los receptores de la angiotensina.

El nivel de significación usado para todos los contrastes fue de $p < 0,05$. El análisis estadístico se llevó a cabo con los programas estadísticos *Statistical Package for the Social Sciences versión 23* (SPSS 23) y EPIDAT 3.1.

RESULTADOS

1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN

De los 1002 pacientes del estudio Cordioprev, un total de 664 continuaban en el e y se realizaron el estudio de FE μ al inicio y después de 6 años de seguimiento, según el flow-chart indicado arriba (**figura 6**), siendo por tanto la población final de este estudio. La edad media al inicio del estudio fue de $59,3 \pm 9$ años. El 83,3% de los participantes fueron hombres. La principal forma de manifestación de la CI fue el IAM, presente en el 60,8% de los pacientes. El resto de las comorbilidades presentes en la población pueden consultarse en la **tabla 6**. No hubo diferencias significativas en cuanto a la edad, sexo ni resto de comorbilidades entre los dos grupos de dieta.

2. ELECCIÓN DE LA POBLACIÓN DE REFERENCIA

Se hicieron comparaciones por parejas entre el porcentaje de pacientes en cada grupo de puntuación con las poblaciones de los ensayos TRA 2 $^{\circ}$ P-TIMI 50, IMPROVE-IT, SAVOR y FOURIER. Los resultados obtenidos en cada una de las comparaciones se pueden consultar en la **figura 7**. Al comparar la proporción de pacientes en cada intervalo de puntuación del estudio Cordioprev con la del estudio IMPROVE-IT, se comprobó que no había diferencias

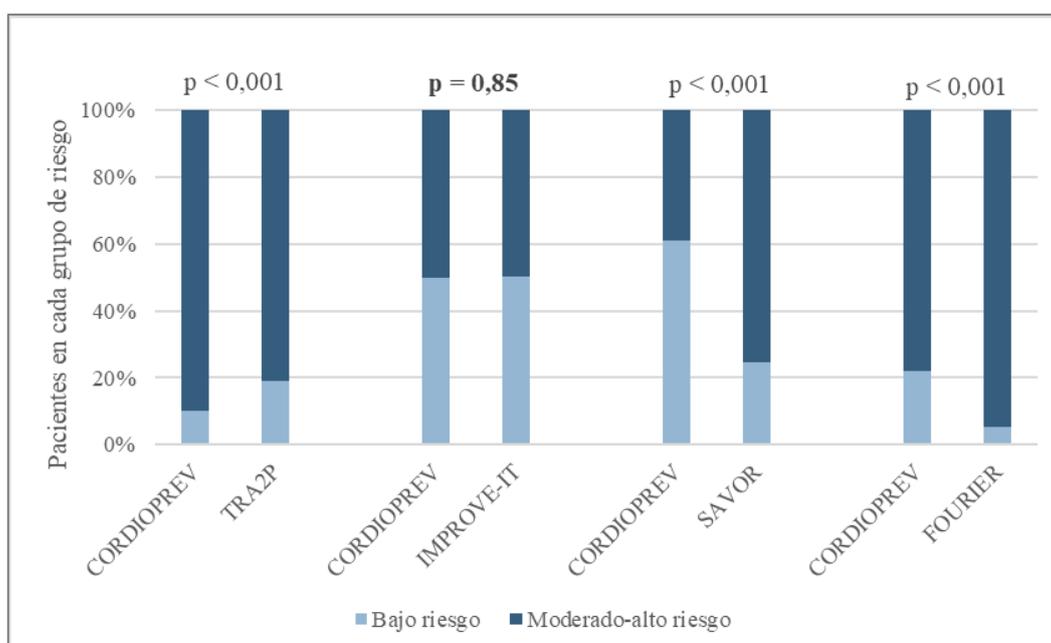


FIGURA 7. COMPARACIÓN POR PAREJAS DE LA DISTRIBUCIÓN DE PACIENTES EN CADA GRUPO DE RIESGO.

estadísticamente significativas entre ellos ($p=0,82$). En cuanto a las comparaciones con el resto de las poblaciones, sí que se encontraron diferencias ($p<0,001$ en todos los casos).

La población del estudio Cordioprev tiene un mayor número de pacientes diabéticos y con antecedentes de IAM ($p<0,001$). Sin embargo, en la población del estudio IMPROVE-IT predominan los pacientes mayores de 75 años y con un filtrado glomerular por debajo de 60 ml/min. No obstante, ambas poblaciones tenían una prevalencia similar de pacientes con HTA, insuficiencia cardíaca, accidente cerebrovascular y EAP ($p=0,37$; $p=0,7$; $p=0,73$ y $p=0,77$ respectivamente). En cuanto a la puntuación media obtenida en la escala, en nuestra cohorte fue de $1,69 \pm 0,98$ puntos respecto a $1,8 \pm 1,2$ puntos en el caso de la población del estudio IMPROVE-IT.

Finalmente, los pacientes fueron clasificados en 3 grupos de riesgo siguiendo la misma clasificación que la usada en el estudio IMPROVE-IT: bajo (0-1 puntos), moderado (2 puntos) y alto (≥ 3 puntos) riesgo cardiovascular.

3. APLICACIÓN DE LA ESCALA TRS2P

La puntuación media al aplicar la escala original fue de 1,69 puntos, con una desviación estándar de 0,98 puntos. La mediana fue de 2 puntos. La puntuación mínima obtenida fue de 0 puntos, con un máximo de 4. La distribución de la puntuación en nuestra población global al aplicar la escala TRS2P se puede consultar en la **figura 8**.

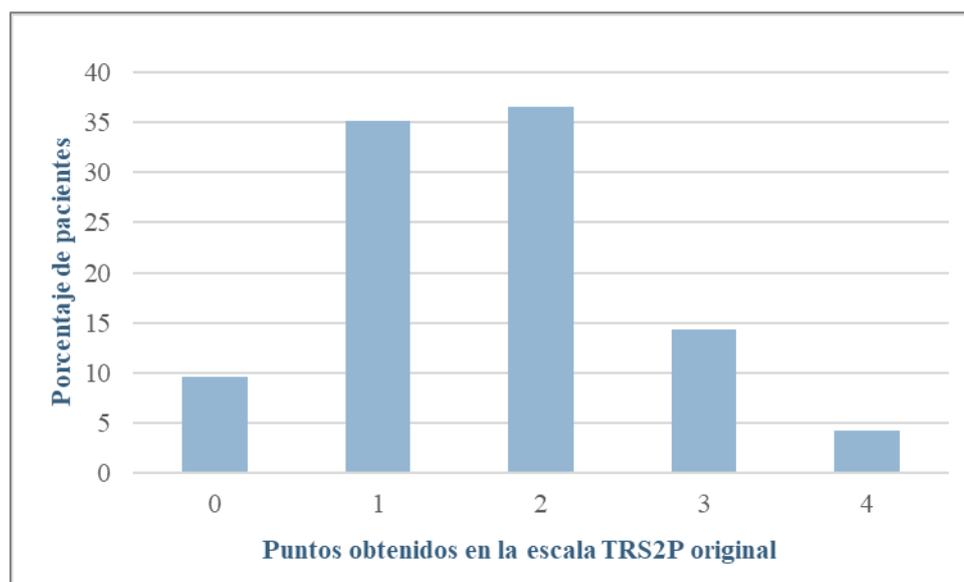


FIGURA 8. DISTRIBUCIÓN DE LA PUNTUACIÓN OBTENIDA EN LA ESCALA TRS2P EN LA POBLACIÓN DEL ESTUDIO CORDIOPREV.

TABLA 6. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA POBLACIÓN Y PREVALENCIA DE LOS FACTORES DE LA ESCALA TRS2P POR GRUPOS DE RIESGO. Distintos superíndices en una misma línea indica diferencias significativas entre los grupos. DietMed: dieta mediterránea. DM2: diabetes mellitus tipo 2. DS: desviación estándar. EAP: enfermedad arterial periférica. HTA: hipertensión arterial. IAM: infarto agudo de miocardio.

	POBLACIÓN TOTAL n=664	RIESGO BAJO (TRS2P < 2) n=298	RIESGO MODERADO (TRS2P = 2) n=243	RIESGO ALTO (TRS2P ≥ 3) n=123	Valor p (Comparación entre grupos)
Dieta (% DietMed)	53,5	55,9	48,4	56,5	0,16
Edad ± DE (años)	59,3 ± 9,1	57,4 ± 9,2 ^a	60,5 ± 8,1 ^b	61,7 ± 9,5 ^b	<0,001
Género (% hombres)	83,3	82,6	81,1	89,5	0,11
FACTORES DE LA ESCALA TRS2P					
Edad ≥ 75 años (%)	2,9	0,7 ^a	2,5 ^a	8,9 ^b	<0,001
Fumadores (%)	18,5	7,4 ^a	18,9 ^b	44,7 ^c	<0,001
DM2 (%)	55,1	21,8 ^a	77 ^b	92,7 ^c	<0,001
HTA (%)	68,2	46,6 ^a	82,3 ^b	92,7 ^c	<0,001
IAM (%)	60,8	66,8 ^a	56 ^b	56,1 ^b	0,018
Ictus (%)	5	1 ^a	4,9 ^b	14,6 ^c	<0,001
EAP (%)	6,5	0 ^a	4,9 ^b	25,2 ^c	<0,001
Bypass coronario (%)	3,2	0 ^a	3,7 ^b	9,8 ^c	<0,001
Insuficiencia cardiaca (%)	3,5	0,7 ^a	2,5 ^a	12,2 ^b	<0,001
Insuficiencia renal (%)	5,7	0,3 ^a	3,3 ^b	23,6 ^c	<0,001

El factor de la escala más frecuente fue la HTA (68,2%), seguido de la DM2 (55,1%). Los factores menos prevalentes han sido edad ≥ 75 años, la necesidad de bypass coronario y el diagnóstico de insuficiencia cardiaca, con un 2,9%, 3,2% y 3,5% respectivamente (**tabla 6**).

No hubo diferencias estadísticamente significativas entre la distribución de la puntuación en ambos grupos de dieta ($p=0,28$). Para este análisis fue necesario agrupar a los pacientes con 4, 5 y 6 puntos debido a la baja frecuencia.

La población se dividió en 3 grupos de acuerdo con la puntuación obtenida en la escala TRS2P: 298 pacientes fueron clasificados como bajo riesgo, 243 como moderado y 123 como alto riesgo de nuevos eventos cardiovasculares. La distribución de cada uno de los factores en cada grupo de riesgo puede consultarse en la **tabla 6**.

4. EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR

La FE μ fue evaluada al inicio y después de 6 años de intervención dietética. Se objetivó una mejoría tanto el FB ($97,78 \pm 2,79$ UAP vs. $179,31 \pm 5,06$ UAP, incremento del 83,38%, $p<0,001$) como el AHR ($4233,3 \pm 127,73$ UAPT vs. $9695,9 \pm 205,23$ UAPT, incremento del 129,04%, $p<0,001$), sin observarse diferencias significativas entre los dos modelos de dieta ($p=0,73$ para FB y $p=0,86$ para AHR) (**Figura 9**).

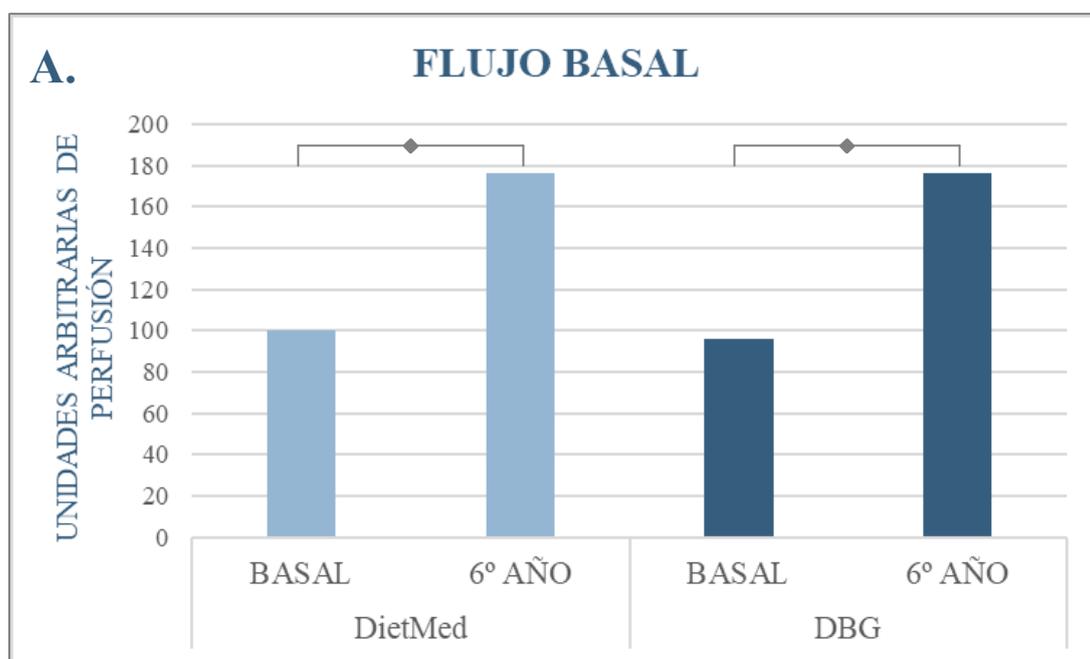


FIGURA 9A. EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR SEGÚN GRUPO DE DIETA. FLUJO BASAL. DietMed: dieta mediterránea. DBG: Dieta baja en grasas. \diamond indica diferencias significativas.

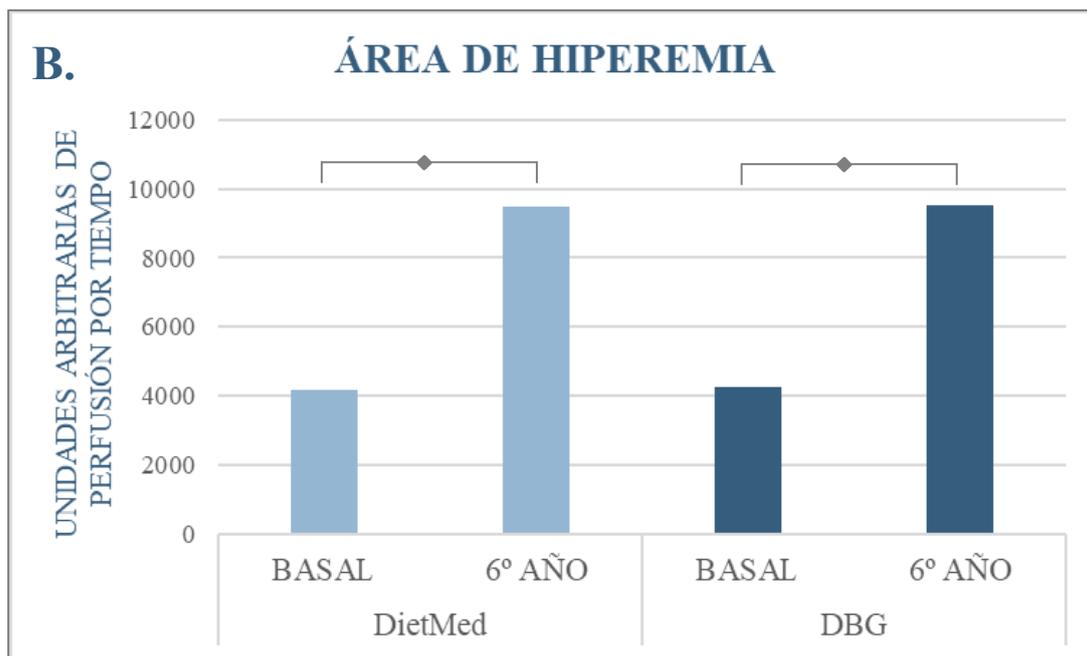


FIGURA 9B. EVOLUCIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR SEGÚN GRUPO DE DIETA. ÁREA DE HIPEREMIA. DietMed: dieta mediterránea. DBG: Dieta baja en grasas. ◊ indica diferencias significativas.

Al evaluar la FE μ en el momento basal según el grupo de riesgo establecido por la escala TRS2P, no se encontraron diferencias significativas en los valores de FB (riesgo bajo: $93,3 \pm 4,23$ UAP vs. riesgo moderado: $101,98 \pm 4,72$ UAP vs. riesgo alto: $100,37 \pm 5,89$ UAP; $p=0,34$) ni AHR (riesgo bajo: $4389,52 \pm 197,46$ UAPT vs. riesgo moderado: $4122,26 \pm 200,9$ UAPT vs. riesgo alto: $4074,24 \pm 299,39$ UAPT; $p=0,54$). Tampoco se encontraron diferencias al comparar los valores iniciales de FB y AHR en cada grupo de dieta dentro del mismo grupo de riesgo (**tabla 7**).

A los 6 años de seguimiento, se objetivó en la población total una mejoría en todos los grupos de riesgo tanto del FB (riesgo bajo: $92,83 \pm 4,2$ vs. $186,62 \pm 7,6$ UAP; riesgo moderado: $102,2 \pm 4,6$ vs. $180,5 \pm 8,4$ UAP; riesgo alto $99,12 \pm 6,6$ vs. $161,46 \pm 12$ UAP; $p<0,001$ en todas las comparaciones) como del AHR (riesgo bajo: $4416,6 \pm 193,2$ vs. $10424,59 \pm 308,5$ UAPT; riesgo moderado $4120,28 \pm 211,9$ vs. $9133,16 \pm 338,3$ UAPT; riesgo alto $4073,02 \pm 303,7$ vs. $8995,58 \pm 484,82$ UAPT; $p<0,001$ en todas las comparaciones). No se encontraron diferencias en la evolución según los grupos de dieta (**tabla 7**). El FB evolucionó de forma similar en los 3 grupos de riesgo ($p=0,47$), pero el AHR presentó una mejoría mayor en el grupo de bajo riesgo en comparación con los grupos de moderado y alto riesgo ($p<0,05$) (**Figura 10**). Los resultados se ajustaron por género y tratamiento al inicio del estudio.

TABLA 7. DIFERENCIAS EN LA FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR SEGÚN GRUPO DE DIETA. DBG: dieta baja en grasas. DietMed: dieta mediterránea. EEM: error estándar medio. UAP: unidades arbitrarias de perfusión. UAPT: unidades arbitrarias de perfusión por tiempo.

	RIESGO BAJO (n=298)			RIESGO MODERADO (n=243)			RIESGO ALTO (n=123)		
FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR ANTES DE LA INTERVENCIÓN									
	DietMed	DBG	<i>p</i>	DietMed	DBG	<i>p</i>	DietMed	DBG	<i>p</i>
Flujo basal ± EEM (UAP)	97,7 ± 6,28	87,67 ± 5,35	0,24	100,4 ± 7,25	103,47 ± 6,14	0,75	101,48 ± 8,1	98,8 ± 8,55	0,83
Área de hiperemia reactiva ± EEM (UAPT)	4251,96 ± 262,3	4564,88 ± 300,36	0,43	4263,6 ± 256,75	3988,83 ± 306,76	0,49	3984,5 ± 389,53	4192,79 ± 470,8	0,73
FUNCIÓN ENDOTELIAL MICROVASCULAR TRAS 6 AÑOS DE INTERVENCIÓN									
	DietMed	DBG	<i>p</i>	DietMed	DBG	<i>p</i>	DietMed	DBG	<i>p</i>
Flujo basal ± EEM (UAP)	187,25 ± 10,61	183,58 ± 10,79	0,81	192 ± 12,35	168,61 ± 10,7	0,15	153,5 ± 16,99	174,9 ± 16,99	0,38
Área de hiperemia reactiva ± EEM (UAPT)	10454,14 ± 435,16	10407,16 ± 447,77	0,94	8924,86 ± 534,85	9318,21 ± 427,91	0,57	9191,91 ± 512,71	8821,78 ± 740,77	0,68

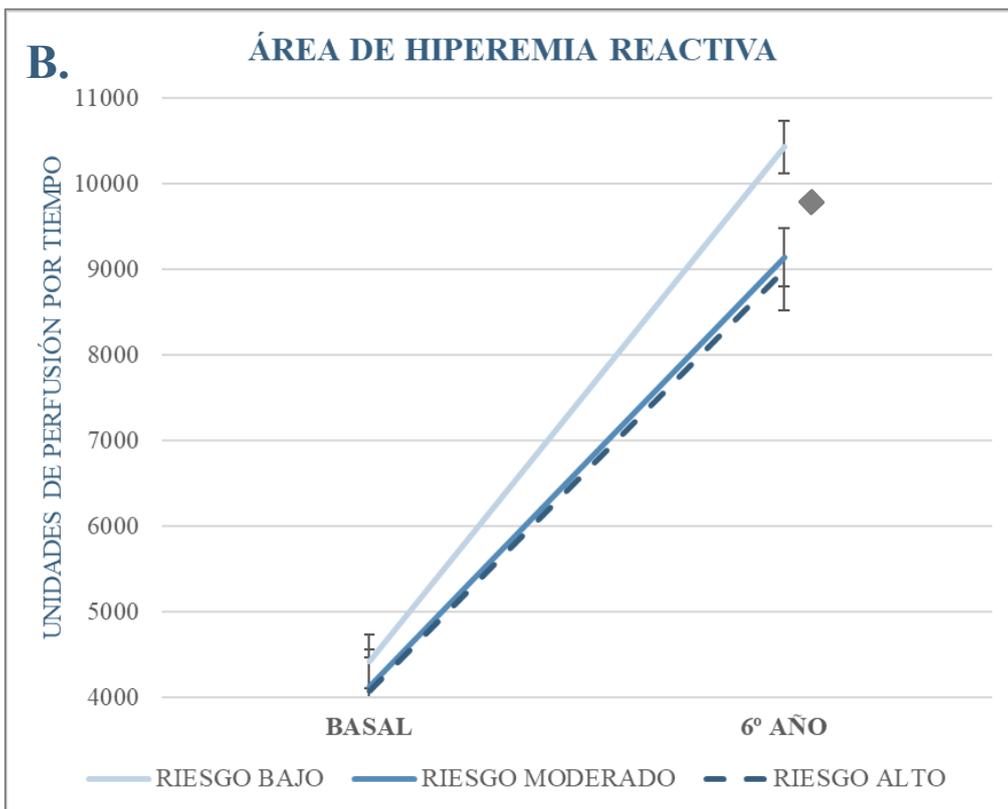
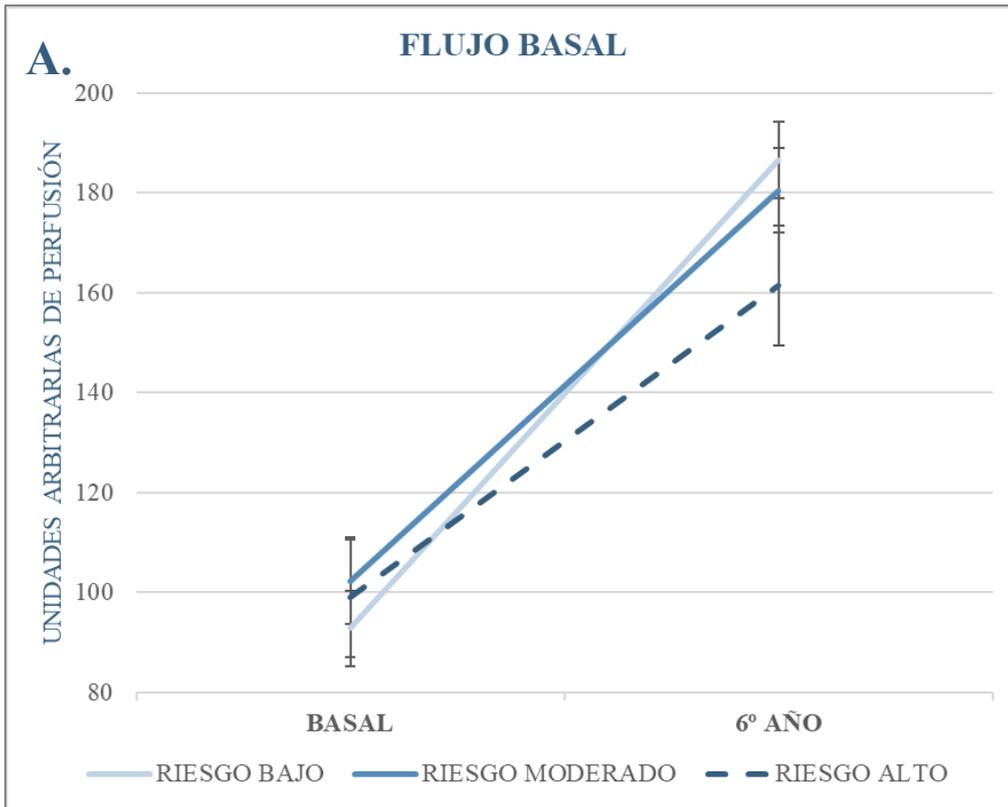


FIGURA 10. EVOLUCIÓN DE LA FEm SEGÚN EL GRUPO DE RIESGO. A. Evolución de flujo basal. B. Evolución de área de hiperemia. DietMed: dieta mediterránea. DBG: Dieta baja en grasas. ◊ indica diferencias significativas.

DISCUSIÓN

Este trabajo ha permitido demostrar que la escala TRS2P tiene la capacidad de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular de acuerdo con la evolución de la FE μ en pacientes con CI. Concretamente, se ha objetivado que los pacientes clasificados como bajo riesgo de nuevos eventos cardiovasculares tienen una mejor evolución de la FE μ tras la intervención dietética, en comparación con aquellos clasificados como moderado o alto riesgo. Además, se ha podido comprobar que el consumo prolongado de una dieta cardiosaludable (DietMed o DBG) mejora la FE μ en los pacientes con CI. Esta mejoría se ha objetivado en todos los grupos de riesgo, aunque ha sido mayor en el grupo de pacientes clasificados como bajo riesgo de nuevos eventos cardiovasculares. No obstante, no hemos encontrado diferencias significativas en la evolución de la FE μ entre los dos grupos de dieta.

1. FUNCIÓN ENDOTELIAL Y ESCALA TRS2P

Nuestros resultados muestran que una mayor puntuación en la escala TRS2P se relaciona con una menor capacidad de mejoría de la FE μ tras la intervención dietética. Hay disponibles estudios que de forma independiente demuestran que la presencia aislada de cada uno de los factores de la escala se correlaciona con el deterioro de la función endotelial. El tabaco es una de las principales fuentes exógenas de radicales libres y promueve a su vez la activación de radicales libres endógenos, lo que aumenta el estrés oxidativo (121). De hecho, hay estudios que demuestran que el consumo de cigarrillos disminuye la reactividad endotelial microvascular (122). En el caso de patologías como la HTA y la DM2, se ha comprobado que generan un aumento en las concentraciones de ROS, a la vez provocan un empeoramiento de la función endotelial (123). *Lee et al* demostraron que los pacientes con insuficiencia cardíaca con fracción de eyección preservada tenían una peor función endotelial que los pacientes sanos (124) y *Akiyama et al* reportaron, además, un aumento de los eventos cardiovasculares (71). Este deterioro de la función endotelial también se ha objetivado en pacientes con CI y EAP respecto a individuos sanos (48,125,126).

La presencia simultánea de estas condiciones clínicas podría ocasionar un deterioro mayor de la FE μ en comparación con la presencia aislada de cada una de ellas. Una puntuación más alta en la escala TRS2P implica que un mismo paciente padece de varias condiciones

clínicas que deterioran la función endotelial. De hecho, nosotros hemos objetivado que a mayor puntuación en la escala TRS2P, menor capacidad de mejoría de la FE μ . Existen múltiples trabajos que relacionan los factores que se incluyen en TRS2P con un deterioro de la FE μ , aunque la evaluación de la evolución de la FE μ en función de los grupos de TRS2P no se ha realizado hasta este estudio. Un trabajo realizado por *Celermajer et al* en 1994 ya relacionaba la presencia de más FRCV simultáneos con un mayor empeoramiento de la VMF en individuos sin ASCVD (127). En el trabajo llevado a cabo *Maeda et al* se obtuvieron resultados similares a nivel de la microcirculación (128). Ellos evaluaron la FE μ en pacientes con enfermedad polivascular, definida como la afectación simultánea de más de un lecho vascular, ya sea a nivel coronario, cerebrovascular o periférico. Encontraron que los pacientes que presentaban enfermedad polivascular tenían una peor FE μ que aquellos sin afectación o con un único territorio vascular afectado. De hecho, demostraron que la FE μ empeoraba significativamente a medida que aumentaba el número de lechos vasculares deteriorados. La edad, el tabaquismo, la función renal, los niveles de HbA1c y la HTA, se correlacionaron de forma independiente con la presencia de enfermedad polivascular (128). A la vista de lo anterior, es plausible que los pacientes de alto riesgo, según la escala TRS2P, respondieran en menor grado a la intervención dietética que los pacientes de bajo riesgo. El valor añadido que tiene la presente tesis es que hemos comprobado que esa disfunción microvascular asociada a los factores de riesgo es reversible a través de la dieta, especialmente en los sujetos con TRS2P bajo.

No hemos podido comprobar en nuestra población si el grupo de alto riesgo presentó una mayor incidencia de eventos cardiovasculares, debido a que no disponíamos de permiso de acceso a los datos de eventos cardiovasculares del estudio Cordioprev. Estos datos se encuentran actualmente bajo embargo científico por parte del *Steering Committee*. Sin embargo, la aplicación de la escala TRS2P en otras poblaciones sí que ha demostrado que los pacientes clasificados como moderado y alto riesgo presentan una mayor incidencia de eventos cardiovasculares que los clasificados como bajo riesgo (19,21–27). Este hecho se ha objetivado tanto en el contexto de ensayos clínicos (19,21–23) como en estudios realizados sobre población real (24–27). Por otro lado, una peor función endotelial se ha relacionado también con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares. *Kitta et al* comprobaron que el tratamiento de los FRCV mejoraba la función endotelial a los 6 meses en los pacientes con CI, a la vez que observaron que aquellos en los que no hubo una mejoría de la función endotelial tuvieron una mayor incidencia de eventos cardiovasculares a los 36 meses de seguimiento (86). Resultados

similares se obtuvieron en una población de mujeres hipertensas postmenopáusicas (84). A nivel de la microcirculación, una peor función endotelial también se ha relacionado con una mayor tasa de eventos cardiovasculares en pacientes con insuficiencia cardíaca (71) y CI sin lesiones en el cateterismo (72). Por lo tanto, disponemos de evidencia que demuestra que tanto una peor evolución de la función endotelial como una mayor puntuación en la escala TRS2P se correlacionan con una mayor incidencia de eventos cardiovasculares. Ambas premisas apoyan que nuestros pacientes clasificados como moderado y alto riesgo tengan una mayor tasa de eventos que el grupo de bajo riesgo, ya que son los que tienen una peor FE μ . No obstante, podremos comprobar estos datos en el estudio Cordioprev una vez que se autorice su estudio.

2. EFECTOS DE LA DIETA SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

Diversos aspectos de la función endotelial pueden ser modulados a través de medidas higiénico-dietéticas como la dieta y el ejercicio físico. Recordemos aquí que el endotelio de los distintos tipos de vasos (arterias de resistencia, conducción y capilares) puede tener distinta regulación dependiendo su estructura, la existencia de control nervioso, reacción a marcadores humorales, etc. Los resultados de nuestro trabajo demuestran que el consumo a largo plazo tanto de una DietMed como una DBG mejora la FE μ en los pacientes con CI. A continuación, se revisará la evidencia de los efectos de la alimentación en distintos aspectos de la función endotelial.

A. DIETA MEDITERRÁNEA

El efecto beneficioso del consumo de un modelo de DietMed sobre la función endotelial macro y microvascular se ha objetivado en varios estudios. En un subanálisis de la población diabética y prediabética del estudio Cordioprev, ya objetivamos que la FEM (medida por VMF) mejoraba tras el consumo durante 1 año y medio de una DietMed rica en AOVE (109). Un metaanálisis reciente, en el que se incluyeron 7 ensayos clínicos que usaron la VMF para evaluar la FEM, confirmó estos resultados (129). Si nos centramos en la microcirculación, disponemos de estudios que demuestran que el consumo de DietMed mejora la FE μ en pacientes mayores de 65 años sanos, ya sea de forma aislada o en combinación con ejercicio físico (112,113). Este beneficio también se ha observado en pacientes con hipercolesterolemia o síndrome metabólico al evaluar el efecto de DietMed sobre la FE μ postprandial mediante

FLD (56,58). De acuerdo con la bibliografía revisada, nuestro trabajo es el primero en demostrar que la DietMed por sí sola mejora la FE μ a largo plazo en pacientes con CI. Los estudios que estaban disponibles hasta el momento tenían un periodo de seguimiento corto, se llevaban a cabo sobre población sin ASCVD o evaluaban el efecto combinado de la dieta y el ejercicio físico (56,110–113).

Los mecanismos que justifican esta mejoría de la función endotelial en los individuos que consumen una DietMed son muy variados y están íntimamente relacionados con la composición de esta dieta. El AOVE es rico en ácidos grasos monoinsaturados (*monounsaturated fatty acids*, MUFA) y compuestos fenólicos, los cuales han demostrado reducir la producción del anión superóxido y disminuir la oxidación de partículas de cLDL, procesos que favorecen el desarrollo de la placa de ateroma y la disfunción endotelial (130,131). Por otro lado, el consumo de pescado azul estimula el funcionamiento de la eNOs, que junto con un aumento de los precursores del NO (nitrógeno inorgánico y L-arginina) por medio del consumo de verduras, cereales y legumbres, genera un aumento de su biodisponibilidad (129). Este aumento de la biodisponibilidad de NO se relaciona con una disminución del estrés oxidativo, el cual podemos medir a través de la concentración de marcadores proinflamatorios en plasma. El consumo a largo plazo de una DietMed rica en AOVE se ha relacionado con una reducción de la concentración plasmática de marcadores proinflamatorios tanto en estudios observacionales realizados sobre una población sana como en ensayos clínicos. El estudio observacional ATTICA incluyó un total de 3000 habitantes sanos de la región griega de Ática y relacionó una mayor adherencia a la DietMed con una menor concentración de proteína C reactiva, interleucina-6, homocisteína y fibrinógeno (132). Hallazgos similares se obtuvieron en una población con alto RCV en el ensayo clínico PREDIMED. En este caso, se vinculó el consumo de una DietMed con una menor concentración de marcadores proinflamatorios en comparación con la dieta control (133). Además, los resultados finales del estudio PREDIMED demostraron que el consumo de una DietMed en una población de alto RCV disminuía la incidencia de eventos cardiovasculares.

Nuestro grupo ha demostrado en trabajos previos que el consumo de una DietMed se asocia con una reducción de los marcadores de inflamación y estrés oxidativo, junto con un aumento de la biodisponibilidad de NO (62,134). También se ha relacionado el consumo de AOVE durante un periodo de 4 semanas con una reducción de la concentración de

micropartículas endoteliales y un aumento de los niveles de células endoteliales progenitoras (60). Ambos grupos de moléculas están relacionadas con el estrés oxidativo y la disfunción endotelial, y se ha comprobado asimismo que se encuentran aumentadas en pacientes con FRCV, CI o EAP (135). Por otro lado, se cree que las células progenitoras endoteliales contribuyen a mantener la homeostasis del endotelio al intervenir en los mecanismos de reparación. Podemos ver un descenso de su concentración en pacientes con ASCVD y FRCV, condiciones que se relacionan con una capacidad de regeneración del endotelio disminuida y, por lo tanto, con una peor función endotelial (136). Disponemos de trabajos realizados sobre la cohorte del estudio Cordioprev en los que se ha evaluado la evolución de la concentración de células endoteliales progenitoras y de micropartículas endoteliales tras un año de consumo de DietMed y DBG (137). El consumo de una DietMed se relacionó con un aumento de la concentración de células endoteliales progenitoras y una reducción de las micropartículas endoteliales. Estos cambios se acompañaron de una mejoría de la FEM evaluada mediante VMF y una disminución de la producción intracelular de ROS (137). En nuestro trabajo hemos estudiado la función endotelial a nivel de la microcirculación y hemos comprobado que la DietMed mejora la FE μ tras 6 años de intervención dietética. Estos resultados son acordes con los objetivos previamente a nivel de la macrocirculación por *Torres-Peña et al* (109) y *Yubero et al* (137) en el seno del estudio Cordioprev y en otros contextos clínicos (60,61,111,112).

B. DIETA BAJA EN GRASAS

Los mecanismos por los que una DBG puede mantener o mejorar la función endotelial no están bien caracterizados. Se postula que la disminución de moléculas proinflamatorias y los cambios en la concentración de citoquinas como la leptina y la adiponectina podrían jugar un papel importante en este proceso (138). Hay autores que asocian estos cambios con la pérdida de peso. Se ha comprobado por medio de varios estudios que la reducción del peso se acompaña de una mejoría de la FEM evaluada mediante VMF, especialmente en los casos en los que se consumía una DBG en comparación con dietas bajas en carbohidratos. No obstante, se encontró una heterogeneidad significativa entre los estudios, probablemente por las diferencias de la pérdida de peso, las características de los pacientes y la técnica al medir la FEM mediante VMF (139). En nuestro caso, el efecto de la pérdida de peso no parece que aporte un efecto significativo, ya que hemos comprobado una mejoría de la FE μ a los 6 años de la intervención

sin que se haya visto acompañada de un cambio significativo en el índice de masa corporal al final de la intervención dietética (95). Por otro lado, se ha estudiado el efecto del tipo de grasa sobre la función endotelial. Uno de los cambios más significativos que se han objetivado en la población del estudio Cordioprev ha sido la proporción y el tipo de grasas consumidas. Ambos grupos de intervención disminuyeron de forma significativa el consumo de ácido grasos saturados (*saturated fatty acids*, SFA) al final del seguimiento (140). Por lo tanto, es un mecanismo que puede intervenir en la mejoría de la FE μ en ambos grupos de dieta.

El consumo de SFA se ha vinculado en diferentes trabajos con un empeoramiento de la función endotelial. Un trabajo llevado a cabo por nuestro grupo en el contexto del estudio LIPGENE, evaluó la FE μ posprandial en 74 pacientes con síndrome metabólico tras el consumo durante 12 semanas de 4 tipos de dieta con diferente composición y distribución de las grasas. En este trabajo vieron como los participantes que siguieron una dieta rica en SFA (16%) presentaban una peor FE μ postprandial que el resto. Este empeoramiento de FE μ posprandial vino acompañada de una menor actividad de la eNOs (141). Previamente, se había comprobado este deterioro de la FE μ tras el consumo de una dieta rica en SFA en pacientes diabéticos (142).

Los estudios sobre el efecto a largo plazo de los ácidos grasos de la dieta sobre la función endotelial se han realizado sobre todo a nivel de la macrocirculación. *Wycherley et al* estudiaron el efecto de una DBG y una dieta baja en hidratos de carbono (DBHC) durante 52 semanas en 69 pacientes con sobrepeso/obesidad. Al final del estudio objetivaron que la FEM empeoró en aquellos pacientes que habían consumido una DBHC, la cual tenía un porcentaje de SFA 20%, manteniéndose estable en el grupo que consumió una DBG (SFA<8%) (143). Posteriormente, este mismo grupo de trabajo realizó un estudio similar en una población diabética con sobrepeso u obesidad. Usaron una dieta muy baja en hidratos de carbono vs una dieta alta en hidratos de carbono, ambas con una proporción de SFA < 10%. En este caso la FEM se mantuvo constante a las 52 semanas de seguimiento, lo que hace pensar que el deterioro de la FEM visto en el trabajo previo podría deberse al alto porcentaje de SFA de la DBHC (117).

Respecto a los resultados obtenidos en el contexto del estudio Cordioprev, el trabajo llevado a cabo por *Torres-Peña et al* (109) objetivó que la FEM se mantenía estable tras 1 año

y medio de seguimiento en el grupo de pacientes prediabéticos y diabéticos que consumieron una DBG. Aunque este trabajo no objetivó una regresión del deterioro de la función endotelial, sí que la mantuvo estable, lo que sugiere que el consumo de una DBG puede evitar o estabilizar el deterioro de la función endotelial secundario a la edad y a la enfermedad cardiovascular. *Yubero-Serrano et al* también encontraron una estabilidad de la FEM tras 1 año de seguimiento (137). No obstante, en nuestro caso sí que hemos encontrado una mejoría significativa de la FE μ . Hay que tener en cuenta que el lecho vascular estudiado es diferente y que el periodo de seguimiento fue mayor en nuestro caso.

La evidencia de la que disponemos hasta ahora no aclara el efecto concreto de la DBG sobre la función endotelial. El periodo de intervención de la mayoría de los estudios es corto y la población estudiada no presentaba ASCVD establecida. Además, la mayor parte de la evidencia proviene de estudios sobre otros lechos vasculares diferentes a la microcirculación. Según nuestro conocimiento, este trabajo ha sido el primero en evaluar los efectos a largo plazo de la DBG sobre la FE μ en pacientes con CI. Queda pendiente analizar los mecanismos implicados en esta mejoría, para lo que es necesario seguir investigando.

3. APLICABILIDAD EN LA PRÁCTICA CLÍNICA DE NUESTROS RESULTADOS

Este trabajo nos ha permitido utilizar una herramienta emergente que predice el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares en pacientes con ASCVD. La aplicación de la TRS2P en la práctica clínica es sencilla y nos puede ayudar a personalizar el tratamiento de nuestros pacientes.

La escala TRS2P se ha aplicado anteriormente en diferentes ensayos clínicos como IMPROVE-IT (21), SAVOR (22) y FOURIER (23), cuyos objetivos principales eran evaluar la eficacia de diferentes terapias farmacológicas para disminuir el número de eventos cardiovasculares y la mortalidad en pacientes con muy alto RCV o ASCVD establecida. Como resultados obtuvieron que los pacientes clasificados como bajo riesgo presentaron una menor incidencia de eventos cardiovasculares que aquellos clasificados como moderado o alto riesgo a los 24-36 meses de seguimiento. Además, se comprobó que los pacientes que se beneficiaban de una terapia farmacológica más exhaustiva eran aquellos que presentaban una puntuación

más alta en la escala TRS2P (21–23). En nuestro trabajo, hemos clasificado a los pacientes de acuerdo con la puntuación en la escala TRS2P para estudiar la evolución de la FE μ por medio de la FLD en cada grupo de riesgo. Para nosotros era importante evaluar si el efecto de cada una de las dietas era diferente según la gravedad de ASCVD de nuestros pacientes. En caso afirmativo, esto nos permitiría implementar diferentes enfoques dietéticos según las características de los pacientes. No hemos encontrado diferencias entre los dos modelos de dieta en cuanto a su efecto sobre la FE μ . Lo que sí que hemos objetivado es que, tras la intervención dietética, el FB mejoraba por igual en todos los grupos de riesgo. Sin embargo, al estudiar la evolución del AHR, parámetro que mide la respuesta del endotelio tras un periodo de isquemia, hemos comprobado que los pacientes clasificados como bajo riesgo de nuevos eventos cardiovasculares tenían una mejor evolución de su FE μ a los 7 años de seguimiento que los del grupo moderado o alto riesgo. En estudios anteriores, sólo los pacientes clasificados como moderado y alto riesgo se beneficiaban de un tratamiento farmacológico más intenso (19,23), pero en nuestro trabajo son los pacientes de bajo riesgo los que más se benefician de la intervención dietética. Esta mejoría de la FE μ aún no se ha correlacionado con una menor incidencia de eventos cardiovasculares en nuestra población, pero nuestro grupo de trabajo ha demostrado recientemente que una DietMed disminuye la incidencia de eventos cardiovasculares en pacientes con CI (95). De acuerdo con esos resultados y con los obtenidos en este estudio, probablemente las recomendaciones dietéticas adquieran especial importancia en los pacientes clasificados como bajo riesgo de eventos cardiovasculares, ya que son los que menos se benefician de un tratamiento farmacológico más exhaustivo, pero sí son los que obtienen una mejor evolución de la FE μ al consumir una dieta cardiosaludable. Si tenemos en cuenta nuestros resultados y la evidencia disponible en la literatura, la aplicación de la escala TRS2P en pacientes con ASCVD podría ayudarnos a la hora de personalizar el tratamiento y seguimiento de nuestros pacientes. De esta forma, los pacientes clasificados como moderado-alto riesgo se van a beneficiar tanto de medidas higiénico-dietéticas como medidas farmacológicas exhaustivas, mientras que los pacientes incluidos en el grupo de bajo riesgo serán los que más se beneficien de medidas higiénico-dietéticas y del tratamiento farmacológico convencional. Hay que tener en cuenta que hemos utilizado esta herramienta relacionándola con un marcador subrogado de enfermedad cardiovascular y no con eventos clínicos. Se necesitan más estudios que correlacionen la puntuación TRS2P con la incidencia de eventos cardiovasculares en la población del estudio Cordioprev.

4. LIMITACIONES

Nuestro trabajo no está exento de limitaciones. En primer lugar, a la hora de evaluar la capacidad de la escala TRS2P para establecer un gradiente de RCV entre los pacientes con CI, hemos usado un marcador subrogado de ASCVD y no eventos clínicos. Esto se debe a que actualmente no está autorizado el uso de la base de datos de eventos del estudio Cordioprev hasta que termine el periodo de embargo tras su publicación. Sin embargo, queda pendiente corroborar los resultados obtenidos en este estudio con los datos definitivos del ensayo y así poder comprobar si la puntuación obtenida en la escala TRS2P se correlaciona con la incidencia de eventos cardiovasculares en nuestra población. Por este mismo motivo, tampoco hemos podido comprobar si una mejor evolución de la FE μ se correlaciona con una menor incidencia de eventos cardiovasculares en nuestros pacientes. En segundo lugar, los beneficios del consumo de una dieta cardiosaludable (DietMed y DBG) se han obtenido en el contexto de un ensayo clínico, donde los participantes tienen un seguimiento estrecho y están asesorados. Por ello, estos beneficios podrían no ser tan evidentes en la población general. Además, se ha usado el modelo de DietMed en un país donde tiene una alta aceptación y forma parte de su cultura. La implantación en otros países puede presentar dificultades relacionadas con la disponibilidad de determinados alimentos o incluso puede haber una falta de conciliación con el estilo de vida del lugar. Por ello, los resultados que hemos obtenido no son extrapolables a otros países.

CONCLUSIONES

CONCLUSIÓN PRINCIPAL

La escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular de acuerdo con la evolución de la función endotelial microvascular tras 6 años de intervención dietética en los pacientes con cardiopatía isquémica incluidos en el estudio Cordioprev.

CONCLUSIONES SECUNDARIAS

- a. El consumo tanto de una DietMed como una DBG durante 6 años mejora la función endotelial microvascular de los pacientes con cardiopatía isquémica incluidos en el estudio Cordioprev.
- b. No hemos encontrado diferencias significativas en la evolución de la función endotelial microvascular entre los grupos de riesgo establecidos por la escala TRS2P según la dieta consumida.

PROYECTOS FUTUROS

Este trabajo ha permitido comprobar que la escala TRS2P puede ser una buena herramienta para clasificar en diferentes grupos de riesgo cardiovascular a los pacientes con CI que siguen un modelo de dieta cardiosaludable. También nos ha mostrado que el consumo de una DietMed o una DBG mejora la FE μ de los pacientes con CI. Sin embargo, esto solo es el punto de partida. Gracias a los resultados obtenidos, podemos formular otras hipótesis interesantes que pueden ayudar a ampliar el conocimiento sobre la ASCVD. Entre nuestros proyectos futuros se encuentra estudiar si la escala TRS2P es capaz de establecer un gradiente de riesgo cardiovascular según la incidencia de eventos clínicos durante la intervención dietética y comprobar si los pacientes con una mejor evolución de la FE μ son los que tienen una menor incidencia de eventos cardiovasculares. Además, creemos que la escala TRS2P podría ser útil en la práctica clínica, por lo que vemos interesante estudiar su eficacia en una población real de nuestro entorno.

BIBLIOGRAFÍA

1. Roth GA, Mensah GA, Johnson CO, Addolorato G, Ammirati E, Baddour LM, et al. Global Burden of Cardiovascular Diseases and Risk Factors, 1990-2019: Update From the GBD 2019 Study. *J Am Coll Cardiol.* 2020;76(25):2982–3021.
2. De Smedt D, Kotseva K, de Bacquer D, Wood D, de Backer G, Dallongeville J, et al. Cost-effectiveness of optimizing prevention in patients with coronary heart disease: The EUROASPIRE III health economics project. *Eur Heart J.* 2012;33(22):2865–72.
3. Moran AE, Forouzanfar MH, Roth GA, Mensah GA, Ezzati M, Flaxman A, et al. The global burden of ischemic heart disease in 1990 and 2010: The global burden of disease 2010 study. *Circulation.* 2014;129(14):1493–501.
4. O'Donnell CJ, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Rev Esp Cardiol.* 2008;61(3):299–310.
5. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, et al. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With t. *Eur Heart J.* 2021;42(34):3227–337.
6. Lacey B, Herrington WG, Preiss D, Lewington S, Armitage J. The Role of Emerging Risk Factors in Cardiovascular Outcomes. *Curr Atheroscler Rep.* 2017;19(6):28.
7. Albert J, Gargallo A. La utilización de variables subrogadas en los ensayos clínicos. Servicio de Farmacología Clínica Hospital General Vall d'Hebron, Barcelona [Internet]. Disponible en: <https://esteve.org/wp-content/uploads/2018/01/136729.pdf>
8. Mancini GBJ, Dahlöf B, Díez J. Surrogate Markers for Cardiovascular Disease: structural markers. *Circulation.* 2004;109(25_suppl_1).
9. Cohn JN, Quyyumi AA, Hollenberg NK, Jamerson KA. Surrogate Markers for Cardiovascular Disease. Functional Markers. *Circulation.* 2004;109(25 Suppl 1):IV31-46.
10. Alagona P, Ahmad TA. Cardiovascular Disease Risk Assessment and Prevention. Current Guidelines and Limitations. *Med Clin North Am.* 2015;99(4):711-31.
11. Lloyd-Jones DM, Braun LT, Ndumele CE, Smith SC, Sperling LS, Virani SS, et al. Use of Risk Assessment Tools to Guide Decision-Making in the Primary Prevention of Atherosclerotic Cardiovascular Disease: A Special Report From the American Heart Association and American College of Cardiology. *J Am Coll Cardiol.* 2019;73(24):3153–67.
12. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan L, Ordovas J, Cerdán F, et al. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Rev Esp Cardiol.* 2003;56(3):253–61.

13. Uthoff H, Staub D, Socrates T, Meyerhans A, Bundi B, Schmid HP, et al. PROCAM-, FRAMINGHAM-, SCORE- and SMART-risk score for predicting cardiovascular morbidity and mortality in patients with overt atherosclerosis. *Vasa*. 2010;39(4):325–33.
14. Piniés JA, Gonzalez-Carril F, Arteagoitia JM. Escalas de cálculo del riesgo cardiovascular para pacientes con diabetes. ¿Qué son y de qué nos sirven? *Av Diabetol*. 2015;31(3):102–12.
15. Wilson PWF, D'Agostino R, Bhatt DL, Eagle K, Pencina MJ, Smith SC, et al. An international model to predict recurrent cardiovascular disease. *Am J Med*. 2012;125(7):695-703.e1.
16. Dorresteijn JAN, Visseren FLJ, Wassink AMJ, Gondrie MJA, Steyerberg EW, Ridker PM, et al. Development and validation of a prediction rule for recurrent vascular events based on a cohort study of patients with arterial disease: the SMART risk score. *Heart*. 2013;99(12):866–72.
17. Kaasenbrood L, Boekholdt SM, van der Graaf Y, Ray KK, Peters RJG, Kastelein JJP, et al. Distribution of Estimated 10-Year Risk of Recurrent Vascular Events and Residual Risk in a Secondary Prevention Population. *Circulation*. 2016;134(19):1419–29.
18. De Bacquer D, Ueda P, Reiner Ž, de Sutter J, de Smedt D, Lovic D, et al. Prediction of recurrent event in patients with coronary heart disease: the EUROASPIRE Risk Model. *Eur J Prev Cardiol*. 2022;29(2): 328-39.
19. Bohula EA, Bonaca MP, Braunwald E, Aylward PE, Corbalan R, de Ferrari GM, et al. Atherothrombotic Risk Stratification and the Efficacy and Safety of Vorapaxar in Patients with Stable Ischemic Heart Disease and Previous Myocardial Infarction. *Circulation*. 2016;134(4):304–13.
20. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, Ameriso SF, Dalby AJ, Fish MP, et al. Vorapaxar in the secondary prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med*. 2012;366(15):1404–13.
21. Bohula EA, Morrow DA, Giugliano RP, Blazing MA, He P, Park JG, et al. Atherothrombotic Risk Stratification and Ezetimibe for Secondary Prevention. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69(8):911–21.
22. Bergmark BA, Bhatt DL, Braunwald E, Morrow DA, Steg PG, Gurm Y, et al. Risk assessment in patients with diabetes with the TIMI risk score for atherothrombotic disease. *Diabetes Care*. 2018;41(3):577–85.
23. Bohula EA, Morrow DA, Pedersen TR, Kanevsky E, Murphy SA, Giugliano RP, et al. Atherothrombotic risk stratification and magnitude of benefit of evolocumab in fourier. *Circulation*. 2017;136(Supplement 1):A20183.
24. Williams BA, Chagin KM, Bash LD, Boden WE, Duval S, Fowkes FGR, et al. External validation of the TIMI risk score for secondary cardiovascular events among patients with recent myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 2018;272:80–6.
25. Mok Y, Ballew SH, Bash LD, Bhatt DL, Boden WE, Bonaca MP, et al. International validation of the thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) risk score for secondary prevention in post-mi patients: A collaborative analysis of the chronic kidney disease prognosis consortium and the risk validation scientific committee. *J Am Heart Assoc*. 2018;7(14):e008426.

26. Huang D, Cheng YY, Wong YT, Yung SY, Chan KW, Lam CC, et al. TIMI risk score for secondary prevention of recurrent cardiovascular events in a real-world cohort of post-non-ST-elevation myocardial infarction patients. *Postgrad Med J*. 2019;95(1125):372–7.
27. Grinberg T, Bental T, Hammer Y, Assali A, Vaknin-Assa H, Wiessman M, et al. Management and outcome across the spectrum of high-risk patients with myocardial infarction according to the thrombolysis in myocardial infarction (TIMI) risk-score for secondary prevention. *Clin Cardiol*. 2021;44(11):1535–42.
28. Pries AR, Kuebler WM. Normal endothelium. *Handb Exp Pharmacol*. 2006;176(PART1):1–40.
29. Kierszenbaum AL. Aparato Cardiovascular. In: *Histología y biología celular Introducción a la anatomía patológica*. 2°. Barcelona: Elsevier España; 2008. p. 351–70.
30. Augustin HG, Kozian DH, Johnson RC. Differentiation of endothelial cells: Analysis of the constitutive and activated endothelial cell phenotypes. *BioEssays*. 1994;16(12):901–6.
31. Deanfield JE, Halcox JP, Rabelink TJ. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation*. 2007;115(10):1285–95.
32. Tousoulis D, Kampoli AM, Tentolouris Nikolaos Papageorgiou C, Stefanadis C. The Role of Nitric Oxide on Endothelial Function. *Curr Vasc Pharmacol*. 2011;10(1):4–18.
33. Wink DA, Miranda KM, Espey MG, Pluta RM, Hewett SJ, Colton C, et al. Mechanisms of the Antioxidant Effects of Nitric Oxide. *Antioxid Redox Signal*. 2001;3(2):203–13.
34. Ross R. Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. *N Engl J Med*. 1999;340(2):115–26.
35. Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: From marvel to menace. *Circulation*. 2006;113(13):1708–14.
36. Ludmer PL, Selwyn AP, Shook TL, Wayne RR, Mudge GH, Alexander RW, et al. Paradoxical vasoconstriction induced by acetylcholine in atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1986;315(17):1046–51.
37. Flammer AJ, Anderson T, Celermajer DS, Creager MA, Deanfield J, Ganz P, et al. The assessment of endothelial function: From research into clinical practice. *Circulation*. 2012;126(6):753–67.
38. Anderson TJ, Uehata A, Gerhard MD, Meredith IT, Knab S, Delagrangé D, et al. Close relation of endothelial function in the human coronary and peripheral circulations. *J Am Coll Cardiol*. 1995;26(5):1235–41.
39. Broxterman RM, Witman MA, Trinity JD, Groot HJ, Rossman MJ, Park SY, et al. Strong Relationship Between Vascular Function in the Coronary and Brachial Arteries. *Hypertension*. 2019;74(1):208–15.
40. Benjamin N, Calver A, Collier J, Robinson B, Vallance P, Webb D. Measuring Forearm Blood Flow and Interpreting the Responses to Drugs and Mediators. *Hypertension*. 1995;25(5):918–23.
41. Perticone F, Ceravolo R, Pujia A, Ventura G, Iacopino S, Scozzafava A, et al. Prognostic Significance of Endothelial Dysfunction in Hypertensive Patients. *Circulation*. 2001;104(2):191–6.

42. Heitzer T, Schlinzig T, Krohn K, Meinertz T, Münzel T. Endothelial Dysfunction, Oxidative Stress, and Risk of Cardiovascular Events in Patients With Coronary Artery Disease. *Circulation*. 2001;104(22):2673–8.
43. Higashi Y. Assessment of Endothelial Function. *Int Heart J*. 2015;56(2):125–34.
44. Bonetti PO, Pumper GM, Higano ST, Holmes DR, Kuvin JT, Lerman A. Noninvasive identification of patients with early coronary atherosclerosis by assessment of digital reactive hyperemia. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(11):2137–41.
45. Matsuzawa Y, Li J, Aoki T, Guddeti RR, Kwon TG, Cilluffo R, et al. Predictive value of endothelial function by noninvasive peripheral arterial tonometry for coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2015;26(3):231–8.
46. Woo JS, Jang WS, Kim HS, Lee JH, Choi EY, Kim JB, et al. Comparison of peripheral arterial tonometry and flow-mediated vasodilation for assessment of the severity and complexity of coronary artery disease. *Coron Artery Dis*. 2014;25(5):421–6.
47. Cracowski JL, Minson CT, Salvat-Melis M, Halliwill JR. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol Sci*. 2006;27(9):503–8.
48. Stiefel P, Moreno-Luna R, Vallejo-Vaz AJ, Beltrán LM, Costa A, Gómez L, et al. Which parameter is better to define endothelial dysfunction in a test of postocclusive hyperemia measured by Laser-Doppler flowmetry? *Coron Artery Dis*. 2012;23(1):57–61.
49. De Jongh RT, Serné EH, IJzerman RG, Jørstad HT, Stehouwer CDA. Impaired local microvascular vasodilatory effects of insulin and reduced skin microvascular vasomotion in obese women. *Microvasc Res*. 2008;75(2):256–62.
50. Rossi M, Bradbury A, Magagna A, Pesce M, Taddei S, Stefanovska A. Investigation of skin vasoreactivity and blood flow oscillations in hypertensive patients: Effect of short-term antihypertensive treatment. *J Hypertens*. 2011;29(8):1569–76.
51. Sörensen BM, Houben AJHM, Berendschot TTJM, Schouten JSAG, Kroon AA, van der Kallen CJH, et al. Prediabetes and Type 2 Diabetes Are Associated With Generalized Microvascular Dysfunction: The Maastricht Study. *Circulation*. 2016;134(18):1339–52.
52. Yamamoto-Suganuma R, Aso Y. Relationship between post-occlusive forearm skin reactive hyperaemia and vascular disease in patients with Type 2 diabetes - A novel index for detecting micro- and macrovascular dysfunction using laser Doppler flowmetry. *Diabet Med*. 2009;26(1):83–8.
53. Binggeli C, Spieker LE, Corti R, Sudano I, Stojanovic V, Hayoz D, et al. Statins enhance postischemic hyperemia in the skin circulation of hypercholesterolemic patients: A monitoring test of endothelial dysfunction for clinical practice? *J Am Coll Cardiol*. 2003;42(1):71–7.
54. Agarwal SC, Allen J, Murray A, Purcell IF. Laser Doppler assessment of dermal circulatory changes in people with coronary artery disease. *Microvasc Res*. 2012;84(1):55–9.

55. Roustit M, Blaise S, Millet C, Cracowski JL. Reproducibility and methodological issues of skin post-occlusive and thermal hyperemia assessed by single-point laser Doppler flowmetry. *Microvasc Res.* 2010;79(2):102–8.
56. Ruano J, Lopez-Miranda J, Fuentes F, Moreno JA, Bellido C, Perez-Martinez P, et al. Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46(10):1864–8.
57. Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Perez-Martinez P, Fuentes F, Jiménez-Gomez Y, Gomez-Luna MJ, et al. Gene variations of nitric oxide synthase regulate the effects of a saturated fat rich meal on endothelial function. *Clin Nutr.* 2011;30(2):234–8.
58. Jiménez-Morales AI, Ruano J, Delgado-Lista J, Fernandez JM, Camargo A, López-Segura F, et al. NOS3 Glu298Asp polymorphism interacts with virgin olive oil phenols to determine the postprandial endothelial function in patients with the metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2011;96(10):E1694-702.
59. González-Guardia L, Yubero-Serrano EM, Rangel-Zuñiga O, Marin C, Camargo A, Pérez-Martínez P, et al. Influence of endothelial dysfunction on telomere length in subjects with metabolic syndrome: LIPGENE study. *Age (Dordr).* 2014;36(4):9681.
60. Marin C, Ramirez R, Delgado-Lista J, Yubero-Serrano EM, Perez-Martinez P, Carracedo J, et al. Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *Am J Clin Nut.* 2011;93(2):267–74.
61. Fuentes F, López-Miranda J, Pérez-Martínez P, Jiménez Y, Marín C, Gómez P, et al. Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with α -linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *Br J Nutr.* 2008;100(1):159–65.
62. Yubero-Serrano EM, Delgado-Casado N, Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Tasset-Cuevas I, Santos-Gonzalez M, et al. Postprandial antioxidant effect of the Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q 10 in elderly men and women. *Age (Dordr).* 2011;33(4):579–90.
63. Hamburg NM, Palmisano J, Larson MG, Sullivan LM, Lehman BT, Vasan RS, et al. Relation of brachial and digital measures of vascular function in the community: the Framingham heart study. *Hypertension.* 2011;57(3):390–6.
64. Schnabel RB, Schulz A, Wild PS, Sinning CR, Wilde S, Eleftheriadis M, et al. Noninvasive vascular function measurement in the community cross-sectional relations and comparison of methods. *Circ Cardiovasc Imaging.* 2011;4(4):371–80.
65. Dhindsa M, Sommerlad SM, DeVan AE, Barnes JN, Sugawara J, Ley O, et al. Interrelationships among noninvasive measures of postischemic macro- and microvascular reactivity. *J Appl Physiol.* 2008;105(2):427–32.
66. Debbabi H, Bonnin P, Ducluzeau PH, Lefthérotis G, Levy BI. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation. *Am J Hypertens.* 2010;23(5):541–6.

67. Jakubowski M, Turek-Jakubowska A, Szahidewicz-Krupska E, Gawrys K, Gawrys J, Doroszko A. Profiling the endothelial function using both peripheral artery tonometry (EndoPAT) and Laser Doppler Flowmetry (LD) - Complementary studies or waste of time? *Microvasc Res.* 2020;130:104008.
68. Halcox JPJ, Schenke WH, Zalos G, Mincemoyer R, Prasad A, Waclawiw MA, et al. Prognostic value of coronary vascular endothelial dysfunction. *Circulation.* 2002;106(6):653–8.
69. Matsuzawa Y, Lerman A. Endothelial dysfunction and coronary artery disease: Assessment, prognosis, and treatment. *Coron Artery Dis.* 2014;25(8):713–24.
70. Maréchaux S, Samson R, van Belle E, Breyne J, de Monte J, Dédrie C, et al. Vascular and Microvascular Endothelial Function in Heart Failure with Preserved Ejection Fraction. *J Card Fail.* 2016;22(1):3–11.
71. Akiyama E, Sugiyama S, Matsuzawa Y, Konishi M, Suzuki H, Nozaki T, et al. Incremental prognostic significance of peripheral endothelial dysfunction in patients with heart failure with normal left ventricular ejection fraction. *J Am Coll Cardiol.* 2012;60(18):1778–86.
72. Rubinshtein R, Kuvin JT, Soffler M, Lennon RJ, Lavi S, Nelson RE, et al. Assessment of endothelial function by non-invasive peripheral arterial tonometry predicts late cardiovascular adverse events. *Eur Heart J.* 2010;31(9):1142–8.
73. Shechter M, Issachar A, Marai I, Koren-Morag N, Freinark D, Shahar Y, et al. Long-term association of brachial artery flow-mediated vasodilation and cardiovascular events in middle-aged subjects with no apparent heart disease. *Int J Cardiol.* 2009;134(1):52–8.
74. Muiesan ML, Salvetti M, Painsi A, Monteduro C, Galbassini G, Poisa P, et al. Prognostic role of flow-mediated dilatation of the brachial artery in hypertensive patients. *J Hypertens.* 2008;26(8):1612–8.
75. Hu R, Wang WQ, Lau CP, Tse HF. Gender Differences on Brachial Flow-mediated Dilation and Carotid Intima-media Thickness for Prediction of Spontaneous Cardiovascular Events. *Clin Cardiol.* 2008;31(11):525–30.
76. Nakamura T, Kitta Y, Uematsu M, Sugamata W, Hirano M, Fujioka D, et al. Ultrasound assessment of brachial endothelial vasomotor function in addition to carotid plaque echolucency for predicting cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 2013;167(2):555–60.
77. Santos-García D, Blanco M, Serena J, Rodríguez-Yáñez M, Leira R, Castillo J. Impaired brachial flow-mediated dilation is a predictor of a new-onset vascular event after stroke. *Cerebrovasc Dis.* 2011;32(2):155–62.
78. Brevetti G, Silvestro A, Schiano V, Chiariello M. Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilation to ankle-brachial pressure index. *Circulation.* 2003;108(17):2093–8.
79. Ras RT, Streppel MT, Draijer R, Zock PL. Flow-mediated dilation and cardiovascular risk prediction: A systematic review with meta-analysis. *Int J Cardiol.* 2013;168(1):344–51.

80. Matsuzawa Y, Kwon TG, Lennon RJ, Lerman LO, Lerman A. Prognostic value of flow-mediated vasodilation in brachial artery and fingertip artery for cardiovascular events: A systematic review and meta-analysis. *J Am Heart Assoc.* 2015;4(11).
81. Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sumida H, Sugamura K, Nozaki T, Ohba K, et al. Peripheral endothelial function and cardiovascular events in high-risk patients. *J Am Heart Assoc.* 2013;2(6):1–21.
82. Cooper LL, Wang N, Beiser AS, Romero JR, Aparicio HJ, Lioutas VA, et al. Digital Peripheral Arterial Tonometry and Cardiovascular Disease Events: The Framingham Heart Study. *Stroke.* 2021;52(9):2866–73.
83. Nemcsik J, Cseprekál O, Egresits J, Kielstein J, Kümpers P, Lukasz A, et al. The role of laser Doppler flowmetry tests, serum angiopoietin-2, asymmetric and symmetric dimethylarginine to predict outcome in chronic kidney disease. *J Hypertens.* 2017;35(5):1109–18.
84. Modena MG, Bonetti L, Coppi F, Bursi F, Rossi R. Prognostic role of reversible endothelial dysfunction in hypertensive postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol.* 2002;40(3):505–10.
85. Kabaklić A, Fras Z. Moderate-dose atorvastatin improves arterial endothelial function in patients with angina pectoris & normal coronary angiogram: A pilot study. *Arch Med Sci.* 2017;13(4):827–36.
86. Kitta Y, Obata J, Nakamura T, Hirano M, Kodama Y, Fujioka D, et al. Persistent Impairment of Endothelial Vasomotor Function Has a Negative Impact on Outcome in Patients With Coronary Artery Disease. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53(4):323–30.
87. Willoughby SR, Luu LJ, Cameron JD, Nelson AJ, Schultz CD, Worthley SG, et al. Clopidogrel improves microvascular endothelial function in subjects with stable coronary artery disease. *Heart Lung Circ.* 2014;23(6):534–41.
88. Jax T, Stirban A, Terjung A, Esmacili H, Berk A, Thiemann S, et al. A randomised, active- and placebo-controlled, three-period crossover trial to investigate short-term effects of the dipeptidyl peptidase-4 inhibitor linagliptin on macro- and microvascular endothelial function in type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol.* 2017;16(1):1–16.
89. Sugiyama S, Jinnouchi H, Kurinami N, Hieshima K, Yoshida A, Jinnouchi K, et al. The SGLT2 inhibitor dapagliflozin significantly improves the peripheral microvascular endothelial function in patients with uncontrolled type 2 diabetes mellitus. *Intern Med.* 2018;57(15):2147–56.
90. Gopinath B, Flood VM, Burlutsky G, Mitchell P. Combined influence of health behaviors on total and cause-specific mortality. *Arch Intern Med.* 2010;170(17):1605–7.
91. Martínez-González MÁ, Hershey MS, Zazpe I, Trichopoulou A. Transferability of the Mediterranean diet to non-Mediterranean countries. What is and what is not the Mediterranean diet. *Nutrients.* 2017;9(11):1–14.
92. Dinu M, Pagliai G, Casini A, Sofi F. Mediterranean diet and multiple health outcomes: An umbrella review of meta-analyses of observational studies and randomised trials. *Eur J Clin Nutr.* 2018;72(1):30–43.

93. De Lorgeril M, Renaud S, Salen P, Monjaud I, Mamelle N, Martin JL, et al. Mediterranean alpha-linolenic acid-rich diet in secondary prevention of coronary heart disease. *Lancet*. 1994;343(8911):1454–9.
94. De Lorgeril M, Salen P, Martin JL, Monjaud I, Delaye J, Mamelle N. Mediterranean diet, traditional risk factors, and the rate of cardiovascular complications after myocardial infarction: Final report of the Lyon Diet Heart Study. *Circulation*. 1999;99(6):779–85.
95. Delgado-Lista J, Alcala-Diaz JF, Torres-Peña JD, Quintana-Navarro GM, Fuentes F, Garcia-Rios A, et al. Long-term secondary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet and a low-fat diet (CORDIOPREV): a randomised controlled trial. *Lancet*. 2022;399(10338):1876–85.
96. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N Engl J Med*. 2013;368(14):1279–90.
97. Estruch R, Ros E, Salas-Salvadó J, Covas MI, Corella D, Arós F, et al. Primary Prevention of Cardiovascular Disease with a Mediterranean Diet Supplemented with Extra-Virgin Olive Oil or Nuts. *N Engl J Med*. 2018;378(25):e34.
98. Rees K, Takeda A, Martin N, Ellis L, Wijesekara D, Vepa A, et al. Mediterranean-style diet for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2019;(3):CD009825.
99. Mayr HL, Tierney AC, Kucianski T, Thomas CJ, Itsiopoulos C. Australian patients with coronary heart disease achieve high adherence to 6-month Mediterranean diet intervention: preliminary results of the AUSMED Heart Trial. *Nutrition*. 2019;61:21–31.
100. Sacks FM, Lichtenstein AH, Wu JHY, Appel LJ, Creager MA, Kris-Etherton PM, et al. Dietary fats and cardiovascular disease: A presidential advisory from the American Heart Association. *Circulation*. 2017;136(3):e1–23.
101. Fischer NM, Pallazola VA, Xun H, Cainzos-Achirica M, Michos ED. The evolution of the heart-healthy diet for vascular health: A walk through time. *Vasc Med*. 2020;25(2):184–93.
102. Hooper L, Summerbell CD, Thompson R, Sills D, Roberts FG, Moore HJ, et al. Reduced or modified dietary fat for preventing cardiovascular disease. *Cochrane Database Syst Rev*. 2011;(7):CD002137.
103. Gomez-Delgado F, Katsiki N, Lopez-Miranda J, Perez-Martinez P. Dietary habits, lipoprotein metabolism and cardiovascular disease: From individual foods to dietary patterns. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2021;61(10):1651–69.
104. U.S. Department of Agriculture and U.S. Department of Health and Human Services. Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025. Washington DC. December 2020. Disponible en [DietaryGuidelines.gov](https://www.dietaryguidelines.gov).
105. Davis CR, Hodgson JM, Woodman R, Bryan J, Wilson C, Murphy KJ. A Mediterranean diet lowers blood pressure and improves endothelial function: Results from the MedLey randomized intervention trial. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2017;105(6):1305–13.

106. Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, Zampelas A, Vamvakou G, Efstathiou S, et al. Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2009;90(2):263–8.
107. Ceriello A, Esposito K, Sala L la, Pujadas G, Nigris V de, Testa R, et al. The protective effect of the Mediterranean diet on endothelial resistance to GLP-1 in type 2 diabetes: A preliminary report. *Cardiovasc Diabetol*. 2014;13(1):1–9.
108. Fuentes F, López-Miranda J, Sánchez E, Sánchez F, Paez J, Paz-Rojas E, et al. Mediterranean and Low-Fat Diets Improve Endothelial Function in Hypercholesterolemic Men. *Ann Intern Med*. 2001;134(12):1115.
109. Torres-Peña JD, Garcia-Rios A, Delgado-Casado N, Gomez-Luna P, Alcalá-Díaz JF, Yubero-Serrano EM, et al. Mediterranean diet improves endothelial function in patients with diabetes and prediabetes: A report from the CORDIOPREV study. *Atherosclerosis*. 2018;269:50–6.
110. Torres-Peña JD, Rangel-Zuñiga OA, Alcalá-Díaz JF, Lopez-Miranda J, Delgado-Lista J. Mediterranean diet and endothelial function: A review of its effects at different vascular bed levels. *Nutrients*. 2020;12(8):2212.
111. Valls RM, Farràs M, Suárez M, Fernández-Castillejo S, Fitó M, Konstantinidou V, et al. Effects of functional olive oil enriched with its own phenolic compounds on endothelial function in hypertensive patients. A randomised controlled trial. *Food Chem*. 2015;167:30–5.
112. Fernández JM, Rosado-Álvarez D, da Silva Grigoletto ME, Rangel-Zuñiga OA, Landaeta-Díaz LL, Caballero-Villarraso J, et al. Moderate-to-high-intensity training and a hypocaloric Mediterranean diet enhance endothelial progenitor cells and fitness in subjects with the metabolic syndrome. *Clin Sci*. 2012;123(6):361–73.
113. Klonizakis M, Alkhatib A, Middleton G, Smith MF. Mediterranean diet- and exercise-induced improvement in age-dependent vascular activity. *Clin Sci*. 2013;124(9):579–87.
114. Phillips SA, Jurva JW, Syed AQ, Syed AQ, Kulinski JP, Pleuss J, et al. Benefit of Low-Fat Over Low-Carbohydrate Diet on Endothelial Health in Obesity. *Hypertension*. 2008;51(2):376–82.
115. Barbosa-Yañez RL, Dambeck U, Li L, Machann J, Kabisch S, Pfeiffer AFH. Acute endothelial benefits of fat restriction over carbohydrate restriction in type 2 diabetes mellitus: Beyond carbs and fats. *Nutrients*. 2018;10(12):1–13.
116. Mohler ER, Sibley AA, Stein R, Davila-Roman V, Wyatt H, Badellino K, et al. Endothelial function and weight loss: Comparison of low-carbohydrate and low-fat diets. *Obesity*. 2013;21(3):504–9.
117. Wycherley TP, Thompson CH, Buckley JD, Luscombe-Marsh ND, Noakes M, Wittert GA, et al. Long-term effects of weight loss with a very-low carbohydrate, low saturated fat diet on flow mediated dilatation in patients with type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *Atherosclerosis*. 2016;252:28–31.
118. Mahmoud AM, Hwang CL, Szczurek MR, Bian JT, Ranieri C, Gutterman DD, et al. Low-Fat diet designed for weight loss but not weight maintenance improves nitric oxide-dependent arteriolar vasodilation in obese adults. *Nutrients*. 2019;11(6).

119. Dharmashankar K, Welsh A, Wang J, Kizhakekuttu TJ, Ying R, Gutterman DD, et al. Nitric oxide synthase-dependent vasodilation of human subcutaneous arterioles correlates with noninvasive measurements of endothelial function. *Am J Hypertens*. 2012;25(5):528–34.
120. Delgado-Lista J, Perez-Martinez P, Garcia-Rios A, Alcalá-Díaz JF, Perez-Caballero AI, Gomez-Delgado F, et al. CORonary Diet Intervention with Olive oil and cardiovascular PREvention study (the CORDIOPREV study): Rationale, methods, and baseline characteristics A clinical trial comparing the efficacy of a Mediterranean diet rich in olive oil versus a low-fat diet on cardiovascular disease in coronary patients. *Am Heart J*. 2016 Jul 1;177:42–50.
121. Ambrose JA, Barua RS. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*. 2004;43(10):1731–7.
122. Ijzerman RG, Serne EH, van Weissenbruch MH, de Jongh RT, Stehouwer CDA. Cigarette smoking is associated with an acute impairment of microvascular function in humans. *Clin Sci*. 2003;104(3):247–52.
123. Levy BI, Schiffrin EL, Mourad JJ, Agostini D, Vicaut E, Safar ME, et al. Impaired tissue perfusion a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation*. 2008;118(9):968–76.
124. Lee JF, Barrett-O’Keefe Z, Garten RS, Nelson AD, Ryan JJ, Nativi JN, et al. Evidence of microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction. *Heart*. 2016;102(4):278–84.
125. Çekiç EG, Başaran Ö, Filiz Başaran N, Elmas O, Doğan V, Mert GÖ, et al. Cutaneous microvascular reactivity and aortic elasticity in coronary artery disease: Comparison of the laser Doppler flowmetry and echocardiography. *Microvasc Res*. 2017;109:19–25.
126. Kiani S, Aasen JG, Holbrook M, Khemka A, Sharmeen F, Leleiko RM, et al. Peripheral artery disease is associated with severe impairment of vascular function. *Vasc Med*. 2013;18(2):72–8.
127. Celermajer DS, Sorensen KE, Bull C, Robinson J, Deanfield JE. Endothelium-dependent dilation in the systemic arteries of asymptomatic subjects relates to coronary risk factors and their interaction. *J Am Coll Cardiol*. 1994;24(6):1468–74.
128. Maeda H, Sugiyama S, Jinnouchi H, Matsuzawa Y, Fujisue K, Hirata Y, et al. Advanced peripheral microvascular endothelial dysfunction and polyvascular disease in patients with high cardiovascular risk. *J Cardiol*. 2016;67(5):455–62.
129. Shannon OM, Mendes I, Köchl C, Mazidi M, Ashor AW, Rubele S, et al. Mediterranean Diet Increases Endothelial Function in Adults: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *J Nutr*. 2020;150(5):1151–9.
130. Korakas E, Dimitriadis G, Raptis A, Lambadiari V. Dietary composition and cardiovascular risk: A mediator or a Bystander? *Nutrients*. 2018;10(12).
131. Yubero-Serrano EM, Lopez-Moreno J, Gomez-Delgado F, Lopez-Miranda J. Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *Eur J Clin Nutr*. 2019;72(Suppl 1):8–17.

132. Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Das UN, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean diet attenuates inflammation and coagulation process in healthy adults: The ATTICA study. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(1):152–8.
133. Estruch R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: the experience of the PREDIMED study. *Proc Nut Soc*. 2010;69(3):333–40.
134. Yubero-Serrano EM, Gonzalez-Guardia L, Rangel-Zuñiga O, Delgado-Lista J, Gutierrez-Mariscal FM, Perez-Martinez P, et al. Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q 10 Modifies the expression of proinflammatory and endoplasmic reticulum stress-related genes in elderly men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2012;67(1):3–10.
135. Jimenez JJ, Jy W, Mauro LM, Horstman LL, Bidot CJ, Ahn YS. Endothelial Microparticles (EMP) as Vascular Disease Markers. *Adv Clin Chem*. 2005; 39:131–57.
136. Roberts N, Jahangiri M, Xu Q. Progenitor cells in vascular disease. *J Cell Mol Med*. 2005;9(3):583–91.
137. Yubero-Serrano EM, Fernandez-Gandara C, Garcia-Rios A, Rangel-Zuñiga OA, Gutierrez-Mariscal FM, Torres-Peña JD, et al. Mediterranean diet and endothelial function in patients with coronary heart disease: An analysis of the CORDIOPREV randomized controlled trial. *PLoS Med*. 2020;17(9).
138. Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest*. 2006;116(7):1793–801.
139. Joris PJ, Zeegers MP, Mensink RP. Weight loss improves fasting flow-mediated vasodilation in adults: A meta-analysis of intervention studies. *Atherosclerosis*. 2015;239(1):21–30.
140. Quintana-Navarro GM, Alcalá-Díaz JF, López-Moreno J, Pérez-Corral I, León-Acuña A, Torres-Peña JD, et al. Long-term dietary adherence and changes in dietary intake in coronary patients after intervention with a Mediterranean diet or a low-fat diet: the CORDIOPREV randomized trial. *Eur J Nutr*. 2020;59(5):2099–110.
141. Pérez-Martínez P, Moreno-Conde M, Cruz-Teno C, Ruano J, Fuentes F, Delgado-Lista J, et al. Dietary fat differentially influences regulatory endothelial function during the postprandial state in patients with metabolic syndrome: From the LIPGENE study. *Atherosclerosis*. 2010;209(2):533–8.
142. Tentolouris N, Arapostathi C, Perrea D, Kyriaki D, Revenas C, Katsilambros N. Differential effects of two isoenergetic meals rich in saturated or monounsaturated fat on endothelial function in subjects with type 2 diabetes. *Diabetes Care*. 2008;31(12):2276–8.
143. Wycherley TP, Brinkworth GD, Keogh JB, Noakes M, Buckley JD, Clifton PM. Long-term effects of weight loss with a very low carbohydrate and low fat diet on vascular function in overweight and obese patients: Original Article. *J Intern Med*. 2010;267(5):452–61.

ANEXO

VARIABLES INCLUIDAS EN EL ESTUDIO. IECA: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. TRS2P: Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Risk Score for Secondary Prevention.

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO (Unidades/valores)	INSTRUMENTO
VARIABLES DEMOGRÁFICAS			
Edad	Número de años cumplidos	CUANTITATIVA DISCRETA (Años)	Documento nacional de identidad
Sexo	Género especificado en el documento nacional de identidad	CUALITATIVA DICOTÓMICA (Hombre/mujer)	Documento nacional de identidad
VARIABLES DE LA ESCALA TRS2P			
Mayor de 75 años	Al menos 75 años cumplidos en el momento de la entrevista.	CUALITATIVA: 0 – No cumple criterio. 1 – Cumple criterio.	Documento nacional de identidad
Hábito tabáquico	Consumo de cigarrillos diarios en el momento de la entrevista.	CUALITATIVA: 0 – Consumo de 0 cigarrillos. 1 – Consumo de 1 o más cigarrillos.	Entrevista clínica
Hipertensión arterial	Tomada en el brazo derecho, tras cinco minutos de reposo con un esfigmomanómetro de mercurio. La presión sistólica se definirá con el primer sonido y la diastólica con su desaparición.	CUALITATIVA: 0 – Medida obtenida < 140/90 mmHg 1 – Medida \geq 140/90 mmHg	Exploración física

Continúa

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO (Unidades/valores)	INSTRUMENTO
VARIABLES DE LA ESCALA TRS2P			
Diabetes mellitus tipo 2	Estar en tratamiento con antidiabéticos orales o insulina. Glucemia en ayunas > 126 mg/dl en dos determinaciones separadas. Glucemia >200 mg/dl tras 2 horas de una sobrecarga oral de glucosa. Síntomas clásicos de diabetes y glucemia aleatoria > 200mg/dl.	CUALITATIVA: 0 – No cumple criterios. 1 – Cumple un criterio o más.	Historia clínica/analítica sanguínea/Test de sobrecarga oral de glucosa
Insuficiencia cardiaca	1. Fracción de eyección de ventrículo izquierdo menor 50% medido por ecocardiografía. 2. Clínica o ingreso por insuficiencia cardiaca independientemente de fracción de eyección.	CUALITATIVA: 0 – No cumple criterio. 1 – Cumple criterio.	Ecocardiografía
Infarto agudo de miocardio	1. Dolor torácico de características anginosas o equivalente anginoso. 2. Cambios típicos en el electrocardiograma: cambios del segmento ST, cambios en la onda T y/o aparición de nuevas ondas Q. 3. Elevación de enzimas miocárdicas más de 2 veces el límite superior normal de laboratorio.	CUALITATIVA: 0 – Cumple ≤ 1 criterios. 1 – Cumple ≥ 2 criterios.	Historia clínica

Continúa

VARIABLES	DEFINICIÓN	TIPO (Unidades/valores)	INSTRUMENTO
VARIABLES PARA LA EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL			
Flujo basal	Valor medio obtenido en el minuto previo a la isquemia.	CUANTITATIVA CONTINUA (unidades arbitrarias de perfusión)	Registro obtenido de la flujometría láser doppler
Área de hiperemia reactiva	Valor del área bajo la curva obtenida durante los 2 minutos posteriores a la isquemia.	CUANTITATIVA CONTINUA (unidades arbitrarias de perfusión por tiempo)	Registro obtenido de la flujometría láser doppler
VARIABLES DE CONFUSIÓN			
Tratamiento con estatinas	Prescripción activa del grupo farmacológico.	CUALITATIVA 0 – No prescripción activa 1 – Prescripción activa	Historia clínica
Tratamiento con betabloqueantes	Prescripción activa del grupo farmacológico.	CUALITATIVA 0 – No prescripción activa 1 – Prescripción activa	Historia clínica
Tratamiento con IECA	Prescripción activa del grupo farmacológico.	CUALITATIVA 0 – No prescripción activa 1 – Prescripción activa	Historia clínica
Tratamiento con antagonistas de los receptores de angiotensina	Prescripción activa del grupo farmacológico.	CUALITATIVA 0 – No prescripción activa 1 – Prescripción activa	Historia clínica

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DE LA TESIS

1. Comunicación oral en el 28º congreso SAHTA, celebrado del 8 al 10 de noviembre en Sevilla.
2. Comunicación oral en 10º jornada de Jóvenes Investigadores organizadas por IMIBIC y premio Colegio de Médico – IMIBIC.
3. Comunicación oral en el congreso “American Heary Association Scientific Sessions 2021”, celebrado del 13 al 17 de noviembre de 2021 en Boston (modalidad online).
4. Artículo de revista.

CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN

El Comité Científico certifica que la comunicación con el título

356/135 Evaluación del riesgo cardiovascular de una población española en
prevención secundaria y su comparación con otras poblaciones. Estudio
CordioPrev

del/de los autor/es

(1) Marta Millán Orge, (2) Laura Martín Piedra, (3) José López Moreno, (4) José
López Miranda, (5) Pablo Pérez Martínez, (6) Javier Delgado Lista

ha sido presentada en el

**28° Congreso de la Sociedad Andaluza
de Hipertensión Arterial y Riesgo Vascular,**

celebrado en el Hotel Sevilla Center,
del 8 al 10 de Noviembre de 2018.

En Sevilla, a 10 de Noviembre de 2018



Dr. D. Luis Castilla Guerra

Presidente del Comité Científico

10TH IMIBIC YOUNG INVESTIGATORS MEETING

IMIBIC BUILDING / CONFERENCE ROOM
CÓRDOBA, 16-17 MAY, 2019

El Comité Científico de las **X Jornadas de Jóvenes Investigadores del IMIBIC**, concede el **VI PREMIO COLEGIO DE MÉDICOS – IMIBIC**, al mejor trabajo de investigación presentado por un médico residente, a

MARTA MILLÁN ORGE

por la comunicación titulada

“Healthy dietary pattern improves microvascular endothelial function in patients with atherosclerotic coronary disease from the CORDIOPREV study.”

Córdoba, 17 de Mayo de 2019



Prof. Justo P. Castaño Fuentes
Director Científico del IMIBIC





FREE ACCESS | ABSTRACT

LIFESTYLE AND BEHAVIORAL MEDICINE

SESSION TITLE: HEALTH BENEFITS OF UNSATURATED FATS: HEART, LUNG AND BRAIN

Abstract 13779: Microvascular Endothelial Function, Long-Term Dietary Intervention and Cardiovascular Risk of Recurrence: From the CORDIOPREV Study

Marta Millan-Orge, Jose D torres-Peña, Antonio P Arenas-Larriva, Gracia M Quintana-Navarro, Patricia Peña-Orihuela, Juan F Alcalá-Díaz, NIKIK KATSIKI, Jose Lopez-Miranda, Pablo Perez-Martinez and Francisco Javier Delgado Lista

Originally published 8 Nov 2021 | Circulation. 2021;144:A13779

Abstract

Introduction: Microvascular circulation controls tissue perfusion. Its dysfunction is implicated in damage to the myocardium and is a predictor of cardiovascular events. It has been shown that short-term dietary interventions may influence microvascular endothelial function (MEF) in some populations. There is a lack of evidence on the long-term effect of healthy diet patterns on MEF in patients with coronary heart disease (CHD) and on whether this effect is modified by the risk of CHD recurrence.

Hypothesis: the consumption of healthy diets (Mediterranean diet or Low-fat diet) improves the MEF of CHD patients in the long term, and this effect is interrelated with the risk of CHD recurrence.

Methods: In the CORDIOPREV study, dietary intervention with a Mediterranean diet or a low-fat diet is being carried out in 1002 patients with CHD for 7 years. The effect of this dietary intervention on basal microvascular flow and the area of hyperemia reactive to hypoxia was evaluated in 664 patients by laser-Doppler flowmetry at baseline and after 6 years of intervention. The risk of recurrence of CHD in patients was evaluated according to the TRS2P risk score.

Results: Basal flow and reactive hyperemia area improved after the dietary intervention in the population (basal flow 97.78 ± 2.79 vs. 179.31 ± 5.06 arbitrary perfusion units, 83.38% increase, $p < 0.001$) (reactive hyperemia 4233.3 ± 127.73 vs. 9695.9 ± 205.23 arbitrary perfusion units per time, 129.04% increase, $p < 0.001$), without finding differences due to the diet ($p > 0.05$ for the diet-effect). When patients were stratified to low, medium or high risk of recurrence, the basal flow was similarly increased in all three groups, but the reactive hyperemia area was improved to a

greater extent in patients in the low-risk group compared with those in the medium or high risk groups.

Conclusion: Long-term consumption of a healthy dietary pattern improves MEF in patients with CHD, and this improvement is greater in patients in the low-risk category for cardiovascular recurrence compared with those in the medium and high-risk groups.

Footnotes

Author Disclosures: For author disclosure information, please visit the AHA Scientific Sessions 2021 [Online Program Planner](#) and search for the abstract title.



[^ Back to top](#)



Circulation

AHA Journals

Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology (ATVB)

Circulation

Circ: Arrhythmia and Electrophysiology

Circ: Genomic and Precision Medicine

Circ: Cardiovascular Imaging

Circ: Cardiovascular Interventions

Circ: Cardiovascular Quality & Outcomes

Circ: Heart Failure

Circulation Research

Hypertension

Stroke

Stroke: Vascular and Interventional Neurology

Journal of the American Heart Association (JAHA)

Journal Information

About

Editorial Board



OPEN

Influence of dietary intervention on microvascular endothelial function in coronary patients and atherothrombotic risk of recurrence

Marta Millan-Orge^{1,8}, Jose D. Torres-Peña^{1,2,3,4,8}, Antonio Arenas-Larriva^{1,2,3,4}, Gracia M. Quintana-Navarro^{1,2,3,4}, Patricia Peña-Orihuela^{1,2,3,4}, Juan F. Alcalá-Díaz^{1,2,3,4}, Raul M. Luque^{2,4,5}, Fernando Rodriguez-Cantalejo⁶, Niki Katsiki⁷, Jose Lopez-Miranda^{1,2,3,4}✉, Pablo Perez-Martinez^{1,2,3,4,9} & Javier Delgado-Lista^{1,2,3,4,9}✉

Endothelial dysfunction is a key player in both the onset and development of atherosclerosis. No study has examined whether healthy dietary patterns can improve microvascular endothelial function in patients with coronary heart disease (CHD) in the long-term and whether this relationship can affect patient's risk of CHD recurrence. In the CORDIOPREV study, a randomized, double-blind, controlled trial, dietary intervention with either the Mediterranean diet or a low-fat diet was implemented in 1,002 CHD patients. A laser-doppler flowmetry was performed at baseline and after 6 years of follow up in 664 patients, evaluating the effects of this dietary intervention on microvascular basal flow and reactive hyperaemia area, as well as on the risk of CHD recurrence, based on the TRS2P risk score. Basal flow (97.78 ± 2.79 vs. 179.31 ± 5.06 arbitrary perfusion units, 83.38% increase, $p < 0.001$) and reactive hyperaemia area (4233.3 ± 127.73 vs. 9695.9 ± 205.23 arbitrary perfusion units per time, 129.04% increase, $p < 0.001$) improved after the dietary intervention in the cohort, without finding differences due to the diet ($p > 0.05$ for the diet-effect). When patients were stratified to low, moderate or high-risk of recurrence, basal flow was similarly increased in all three groups. However, reactive hyperaemia area was improved to a greater extent in patients at the low-risk group compared with those at moderate or high-risk. No differences were observed between diets. Healthy dietary patterns can improve microvascular endothelial function and this improvement persists in the long-term. Patients with a low-risk of CHD recurrence show a greater improvement in reactive vasodilation to ischemia than patients in the moderate or high-risk groups.

Abbreviations

CHD	Coronary heart disease
NO	Nitric oxide
EF	Endothelial function
MedDiet	Mediterranean diet
FMD	Flow-mediated dilation

¹Lipids and Atherosclerosis Unit, Internal Medicine Unit, Reina Sofia University Hospital, 14004 Cordoba, Spain. ²Maimonides Biomedical Research Institute of Cordoba (IMIBIC), 14004 Cordoba, Spain. ³Department of Medical and Surgical Sciences, University of Cordoba, 14004 Cordoba, Spain. ⁴CIBER Fisiopatología de La Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Instituto de Salud Carlos III, 28029 Madrid, Spain. ⁵Department of Cell Biology, Physiology, and Immunology, University of Cordoba, Agrifood Campus of Internal Excellence (ceiA3), 14071 Cordoba, Spain. ⁶Biochemical Laboratory, Reina Sofia University Hospital, Córdoba, Spain. ⁷First Department of Internal Medicine, Diabetes Center, Division of Endocrinology and Metabolism, AHEPA University Hospital, 1st Stilonos Kyriakidi, 546 21 Thessaloniki, Greece. ⁸These authors contributed equally: Marta Millan-Orge and Jose D. Torres-Peña. ⁹These authors jointly supervised this work: Pablo Perez-Martinez and Javier Delgado-Lista. ✉email: jlopezmir@uco.es; md1delij@uco.es

LFD	Low-fat diet
MEF	Microvascular EF
LDF	Laser-doppler flowmetry
BF	Basal flow
RHA	Reactive hyperaemia area
TIMI	Thrombolysis in Myocardial Infarction Risk
TRS2P	TIMI Score for Secondary Prevention
ASCVD	Atherosclerotic cardiovascular disease
APUT	Arbitrary perfusion units per time
MUFAs	Monounsaturated fatty acids
LDL	Low-density lipoprotein

Endothelial dysfunction is one of the key processes in the development and progression of atherosclerosis¹. In this context, the endothelium malfunctions mainly due to a lack of bioavailability of nitric oxide (NO), which, in turn, encourages platelet adhesion and aggregation, smooth cell proliferation and migration of leukocytes in the vascular bed, leading to the establishment of a prooxidant, proinflammatory and procoagulant environment². Furthermore, common comorbidities of atherosclerosis, including hypertension, diabetes mellitus, obesity and dyslipidemia enhance the production of reactive oxygen species, thus promoting atherothrombosis¹. Therefore, endothelial dysfunction is currently identified as a key contributor to atherogenesis and the development of atherosclerotic plaque^{1,2}.

Endothelial function (EF) can be evaluated at different blood vessel levels, i.e. at large, medium and microvascular sites. Different methodologies have been developed specifically for each site, as vascular biology in the different types of vessels responds differently to stimuli³. Several cardiovascular risk factors have been linked to an impaired EF⁴. Consumption of a healthy dietary pattern can modulate EF^{5–7}. Indeed, previous studies have shown that the consumption of a Mediterranean diet (MedDiet), rich in extra virgin olive, improved EF in patients with obesity, hypercholesterolaemia, diabetes mellitus or metabolic syndrome in the short term^{5,8,9}. In the CORDIOPREV study, we have previously found a favorable effect of the MedDiet on EF in the brachial artery, measured by flow-mediated dilation (FMD), in patients with coronary heart disease (CHD)^{10,11}. This improvement in FMD correlated with a reduction in the concentration of endothelial microparticles and the intracellular production of reactive oxygen species, as well as an increase in endothelial progenitor cells¹¹. Other healthy dietary patterns, such as a low-fat diet (LFD), have yielded divergent results in terms of their effect on EF^{7,12–15}. Of note, among the different vascular beds used to evaluate EF, the brachial artery EF (assessed by FMD) has been the most studied. In this technique, echography of the brachial artery, before and after cuff-induced hypoxia, reveals the reactivity of medium-sized vessels¹⁶.

The microvascular system constitutes a special vascular site in human biology. The capillaries have certain structural characteristics that affect the regulation of their function, mainly their vasodilatory capacity, with circulating substances playing an important role in this process¹⁷. Microvascular EF (MEF) has been identified as a major homeostatic regulator, since most of the oxygen delivery to cells is carried out by blood capillaries¹⁷. The best-established method to evaluate MEF is laser-doppler flowmetry (LDF), an easy, fast, semi-automatic method to assess blood flow in capillaries in a similar way to pulseoxymetry^{18–21}. The main factors usually assessed by LDF are: (1) basal flow (BF), i.e. the amount of blood flow that passes through the capillaries in a resting condition, and, (2) the reactive hyperaemia area (RHA), which expresses the capacity of the microvascular endothelium to vasodilate in the presence of an acute ischemia²².

MEF has been positively associated with the concentrations of phenol compounds²³, NO²⁴ and endothelial progenitor cells²⁵. In this context, consumption of a MedDiet for 4 weeks increased the circulating levels of these substances and improved MEF^{23–25}. However, up-to-date, there are no studies evaluating the long-term impact of healthy diets on the MEF in CHD patients, or whether this impact is linked to their risk of CHD recurrence. This risk may be assessed by the “Thrombolysis in Myocardial Infarction Risk (TIMI) Score for Secondary Prevention” (TRS2P), a tool that can categorize the risk of recurrence in patients with atherosclerotic cardiovascular disease (ASCVD)²⁶.

The aim of the current study was to evaluate whether the consumption of healthy diets (MedDiet or LFD) influences the MEF of CHD patients in the long-term, and whether this influence may interrelate with the risk of CHD recurrence, assessed by the TRS2P score.

Patients and methods

Overall design and patient population. The CORDIOPREV study (Clinicaltrials.gov number NCT00924937) is a randomized, double-blind, controlled trial including 1,002 CHD patients. The study was conducted at the Instituto Maimonides de Investigación Biomedica de Córdoba (IMIBIC), a scientific institute which carries out research into biomedical areas for the Reina Sofia University Hospital, and the University of Córdoba, Spain. The lipids and atherosclerosis unit, internal medicine unit, is also a member of the CIBER Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición (CIBERObn), a national research organization studying obesity and nutrition and their impact on health and disease.

Objectives and interventions. The aim of the CORDIOPREV study was to examine the efficacy of a MedDiet rich in olive oil, compared with a LFD, to prevent new, major cardiovascular clinical events. The base-

TRS2P RISK INDICATORS	POINTS
Congestive Heart failure	1
Hypertension	1
Age \geq 75	1
Diabetes mellitus	1
Prior stroke	1
Peripheral artery disease	1
Estimated glomerular filtration rate < 60ml/h	1
Current Smoking	1
MAXIMUM POSSIBLE SCORE	9

Figure 1. TRS2P risk indicators. Self-production. Source: Bohula et al.²⁶.

line characteristics, inclusion and exclusion criteria have been published previously²⁷ (See the Supplemental Materials). The aim of the current study was to evaluate whether the consumption of these two healthy diets influences the MEF of CHD patients in the long-term, and whether this influence may interrelate with the risk of CHD recurrence, assessed by the TRS2P. MEF was measured at baseline and during follow-up. The CORDIO-PREV study protocol was approved by the local ethics committee, in line with the Helsinki declaration and good clinical practices, and all patients gave their informed consent to participate in the study.

The current study included only those patients who were active, following the study protocol and who had an LDF performed at 6 years of follow-up.

Assesment of MEF. LDF (Periflux 5000, Perimed SA) was used to assess MEF at baseline and after 6 years. LDF evaluates cutaneous microcirculation in real time through a laser probe situated on the second finger of the dominant hand²². This technique also assesses ischemia-induced effect in a specific site, as a stimulus for microvascular endothelial vasodilation. Ischemia is induced by inflating a blood pressure cuff over suprasystolic pressure (200 to 220 mmHg) for 4 min in the upper arm, 2–4 cm above the elbow bend. BF and RHA were measured. BF was expressed as arbitrary perfusion units (APU) and RHA as arbitrary perfusion units per time (APUT)²².

Patient classification based on their baseline risk of CHD recurrence as assessed by the TRS2P risk score. To assess whether the effect of dietary intervention on the MEF of CHD patients can be related to their risk of CHD recurrence, patients were classified according to the TRS2P score. This tool is used to predict the risk of recurrence in several populations, and is based on 9 clinical entities identified as independent factors of new atherothrombotic events (Fig. 1). Each item represents 1 point. Total score is the sum of all clinical comorbidities present in each individual. According to previous findings^{28–30}, patients were classified into three groups: low (0–1 points), moderate (2 points) and high atherothrombotic risk (> 2 points).

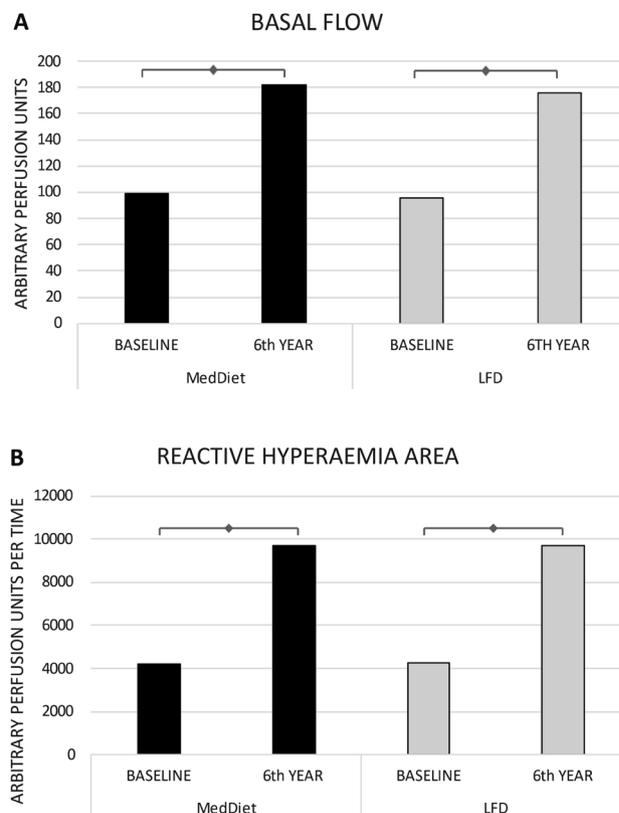


Figure 2. LASER DOPPLER FLOWMETRY (LDF). (A) Basal flow at baseline and after 6 years of consumption of MedDiet or LFD. (B) Reactive hyperaemia area at baseline and after 6 years of consumption of MedDiet or LFD. MedDiet, mediterranean diet; LFD, low fat diet. ◇ indicates significant differences ($p < 0.05$).

Statistical analysis. Continuous variables are expressed as mean \pm standard error, whereas percentages were used to express dichotomous variables. Long-term changes in BF and RHA at 6 years were assessed with a T-test for related samples. Repeated-measures ANOVA and post-hoc multiple comparisons analysis with Bonferroni's correction were used to investigate the effects of diets on BF and RHA and the differences between atherothrombotic risk groups. The chi-square and the Monte Carlo test were performed to evaluate the distribution of the TRS2P components among the three risk groups. All analyses were adjusted for gender and drug therapy (statins, beta-blockers, angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers) at baseline. A 2-sided p value < 0.05 was considered statistically significant. All statistical analyses were performed by the use of SPSS 23 (IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp).

Ethics approval and consent to participate. All the patients gave their written informed consent to participate in the study. Following institutional and Good Clinical Practice guidelines, the Human Investigation Review Committee (the local ethics committee "Comité de Ética de la Investigación de Córdoba (CEIC)") approved the study protocol at Reina Sofia University Hospital.

Consent for publication. Not applicable.

Results

From the initial 1,002 CHD patients included in the CORDIOPREV study, a total of 664 patients were included in the study (See flow-chart included in the Supplemental Materials). Dietary intervention with either MedDiet or LFD improved both BF (97.78 ± 2.79 APU vs. 179.31 ± 5.06 APU, 83.38% increase, $p < 0.001$) and RHA (4233.3 ± 127.73 APUT vs. 9695.9 ± 205.23 APUT, 129.04% increase, $p < 0.001$). No differences were observed between the two diets ($p = 0.69$) (Fig. 2).

According to the TRS2P score, 298 patients were classified as low-risk, 243 as moderate-risk and 123 as high-risk. The clinical characteristics and TRS2P factor distribution for each risk group are shown in Table 1.

At baseline, there were no differences in BF and RHA between risk groups and according to the dietary pattern (BF: 97.7 ± 6.3 vs. 87.7 ± 5.3 APU for MedDiet vs. LFD in the low-risk group; 100.4 ± 7.2 vs. 103.5 ± 6.1 APU for MedDiet vs. LFD in the moderate-risk group; 101.5 ± 8.1 vs. 98.9 ± 8.5 APU for MedDiet vs. LFD in the high-risk group, $p > 0.05$ all comparisons; RHA: 4251.96 ± 262.3 vs. 4564.88 ± 300.3 APUT for MedDiet vs. LFD in the low-risk group; 4263.6 ± 256.7 vs. 3988.83 ± 306.7 APUT for MedDiet vs. LFD in the moderate-risk group; 3984.5 ± 389.5 vs. 4192.8 ± 470.8 APUT for MedDiet vs. LFD in the high-risk group, $p > 0.05$ all comparisons).

BF and RHA significantly improved in the total population after 6 years of follow-up in all risk groups (BF: 92.83 ± 4.2 vs. 186.62 ± 7.6 APU in the low-risk group; 102.2 ± 4.6 vs. 180.5 ± 8.4 APU in the moderate-risk group; 99.12 ± 6.6 vs. 161.46 ± 12 APU in the high-risk group; RHA: 4416.6 ± 193.2 vs. $10,424.59 \pm 308.5$ APUT in the low-risk group; 4120.28 ± 211.9 vs. 9133.16 ± 338.3 APUT in the moderate-risk group; 4073.02 ± 303.7 vs. 8995.58 ± 484.82 APUT in the high-risk group; $p < 0.001$ all comparisons) (Fig. 3). We didn't find any effect of diet in these changes (Supplemental Material).

BF improvement was similar between the three atherothrombotic risk groups ($p = 0.47$), but RHA was greatly improved in the low-risk group compared with both the moderate and high-risk groups ($p < 0.05$) (Fig. 3).

Discussion

The current study found that the consumption a healthy dietary pattern (MedDiet or LFD) over 6 years can lead to a long-term improvement in MEF in patients with CHD. Indeed, both BF and RHA improved compared with baseline measurements, regardless of the type of healthy diet. Furthermore, although this benefit was evident in all patients, those at low-risk of CHD recurrence, according to the TRS2P score, showed an even greater improvement in their RHA, compared with the moderate and high-risk groups.

EF is impaired in patients with hypertension, diabetes mellitus and hypercholesterolemia^{17,31–33}. Drug treatment of these conditions was shown to improve macro- and microvascular EF in the short-term^{3,31–36}. On the other hand, different dietary patterns may modulate EF. In a previous report from our group, the long-term consumption of a MedDiet, rich in extra virgin olive oil, for 1.5 years improved FMD in the brachial artery in patients with diabetes and prediabetes, while the consumption of a LFD stabilized FMD¹⁰. A recent meta-analysis, including 7 randomized controlled trials using FMD, confirmed these results³⁷. Regarding LFD, the evidence on its impact on EF is controversial with some authors reporting an improvement in EF after a few weeks of LFD consumption^{7,13}, and others finding that EF remained stable after one year of follow-up^{12,15}. Of note, the available studies focused on assessing the effect of LFD in obese or diabetic patients without ASCVD^{7,12–15}. Up-to-date, it had not been clarified whether these effects of healthy diets on EF, especially in MEF, persisted or disappeared over time.

With regard to microcirculation, previous studies demonstrated that MedDiet increased MEF at 8 weeks in patients over 65 years, alone or in combination with exercise^{25,38}. This benefit was also observed in patients with hypercholesterolemia or metabolic syndrome, when evaluating postprandial MEF with LDF^{23,24}. There are varying underlying mechanisms that may account for the benefits of a MedDiet on MEF. On one hand, extra virgin olive oil is rich in monounsaturated fatty acids (MUFAs) and phenolic compounds, both of which reduce superoxide production and decrease the oxidation of low-density lipoprotein (LDL) particles, thus inhibiting the development of atherosclerotic plaque and endothelial dysfunction^{39,40}. On the other hand, oily fish increases NO bioavailability, by upregulation of endothelial NO synthase, whereas green vegetables, grains and legumes are the provisions of inorganic nitrate and L-arginine, which are NO precursors³⁷. Oxidative stress, inflammation and endothelial dysfunction are interrelated¹. In fact, long-term consumption of a MedDiet rich in extra virgin olive oil was linked to a reduction in the plasma/serum concentration of pro-inflammatory markers such as interleukin-6, a C-reactive protein, adhesion molecules and in the chemokines in the PREDIMED (Prevención con Dieta Mediterránea) Study^{41,42}, where the MedDiet reduced the relative risk of major cardiovascular events in patients without ASCVD. Most of the evidence about LFD derives from studies involving vascular beds other than microcirculation. Therefore, the findings of the current study are the first to assess long-term impact of LFD on microcirculation with laser-doppler technology, and confirmed that both MedDiet and LFD can improve MEF in patients with CHD.

In the current study, patients were classified according to TRS2P to evaluate whether long-term changes in MEF after the implementation of a healthy dietary pattern were associated with individual's risk of CHD recurrence. This hypothesis could help to implement diverse dietary approaches for patients with a different CHD severity, with a more personalized approach. We used the TRS2P score since this tool was also applied in the *Examining Outcomes in Subjects With Acute Coronary Syndrome: Vytorin (Ezetimibe/Simvastatin) vs Simvastatin* (IMPROVE-IT)²⁸, *The Saxagliptin assessment of vascular outcomes recorded in patients with diabetes mellitus-thrombolysis in myocardial infarction* (SAVOR-TIMI)³⁰ or *the Further Cardiovascular Outcomes Research With PCSK9 Inhibition in Subjects With Elevated Risk* (FOURIER)²⁹ clinical trials which all evaluated the efficacy of pharmacological therapies to decrease atherothrombotic events and mortality in patients with established ASCVD or very high cardiovascular risk. The results from these clinical trials showed that patients classified as low-risk had a lower incidence of atherothrombotic events than the high-risk group in the following 24–36 months.

The aim of the current sub-study from the CORDIOPREV trial was not to evaluate the incidence of atherothrombotic events, but to compare the changes in MEF between risk categories according to TRS2P in the

	Low risk (TRS2P < 2) n = 298	Moderate risk (TRS2P = 2) n = 243	High risk (TRS2P ≥ 3) n = 123	p value
Diet (% MedDiet)	55.9	48.4	56.5	0.16
Age ± SE (years)	57.4 ± 0.5 ^a	60.5 ± 0.5 ^b	61.7 ± 0.8 ^b	< 0.001
Sex (% men)	82.6	81.1	89.5	0.11
Cardiovascular risk and TRS2P factors				
Age ≥ 75 years (%)	0.7 ^a	2.5 ^a	8.9 ^b	< 0.001
Smokers (%)	7.4 ^a	18.9 ^b	44.7 ^c	< 0.001
DM2 (%)	21.8 ^a	77 ^b	92.7 ^c	< 0.001
HTA (%)	46.6 ^a	82.3 ^b	92.7 ^c	< 0.001
MI (%)	66.8 ^a	56 ^b	56.1 ^b	0.018
Stroke (%)	1 ^a	4.9 ^b	14.6 ^c	< 0.001
PAD (%)	0 ^a	4.9 ^b	25.2 ^c	< 0.001
Coronary Bypass (%)	0 ^a	3.7 ^b	9.8 ^c	< 0.001
Heart failure (%)	0.7 ^a	2.5 ^a	12.2 ^b	< 0.001
Renal failure (%)	0.3 ^a	3.3 ^b	23.6 ^c	< 0.001

Table 1. Baseline characteristics of the patients, according to TRS2P risk group. TRS2P, Thrombolysis in Myocardial Infarction Risk (TIMI) Score for Secondary Prevention; MedDiet, mediterranean diet; DM2, diabetes mellitus type 2; HTA, hypertension; MI, myocardial infarction; PAD, peripheral artery disease; SE, standard error. Values in the same row with different letters are significantly different.

environment of a long-term dietary intervention. We found that both MedDiet and LFD improved MEF in a similar way in the low, moderate and high atherothrombotic risk groups. However, the low-risk TRS2P group showed a greater improvement in microvascular reactivity (assessed by the RHA) compared with the moderate and high-risk groups. These findings suggest that, although a healthy dietary pattern can beneficially affect BF in all patients in a similar way, microvascular reactivity to ischemia improves more in low-risk patients according to TRS2P. In previous studies, only patients classified as moderate or high-risk benefited from more intensive pharmacological treatment^{28–30}. However, in the current analysis, it seems that the low-risk patients benefited most from the dietary intervention. Therefore, although this improvement in MEF has not been correlated with a lower incidence of cardiovascular events yet, the role of dietary recommendations in all patients with cardiovascular disease should be highlighted, especially in low-risk groups who may not benefit from more intensive drug therapy and who may gain more from adherence to a healthy dietary pattern, according to the findings of the current study.

To our knowledge, this is the largest study up-to-date evaluating the long-term effects of two dietary healthy patterns on MEF (i.e., BF and RHA) in patients with CHD. However, there are certain limitations, including the lack of possibility of generalization to other populations without CVD, the fact that Mediterranean Diet was used in a country where it has a high acceptance and may not be extrapolated to other countries, or that we performed a high intensity dietary intervention which could be difficult to achieve in other settings.

In conclusion, a long-term healthy dietary intervention with MedDiet or LFD significantly improved microvascular BF in CHD patients, regardless of their baseline atherothrombotic risk (defined by the TRS2P). Microvascular reactivity to ischemia (as assessed by RHA) also improved in all CHD patients following a healthy dietary pattern, but this improvement was greater in patients at the low-risk category compared with those at the moderate and high-risk groups. Further research is needed to establish the long-term benefits of dietary interventions in MEF in different patient populations.

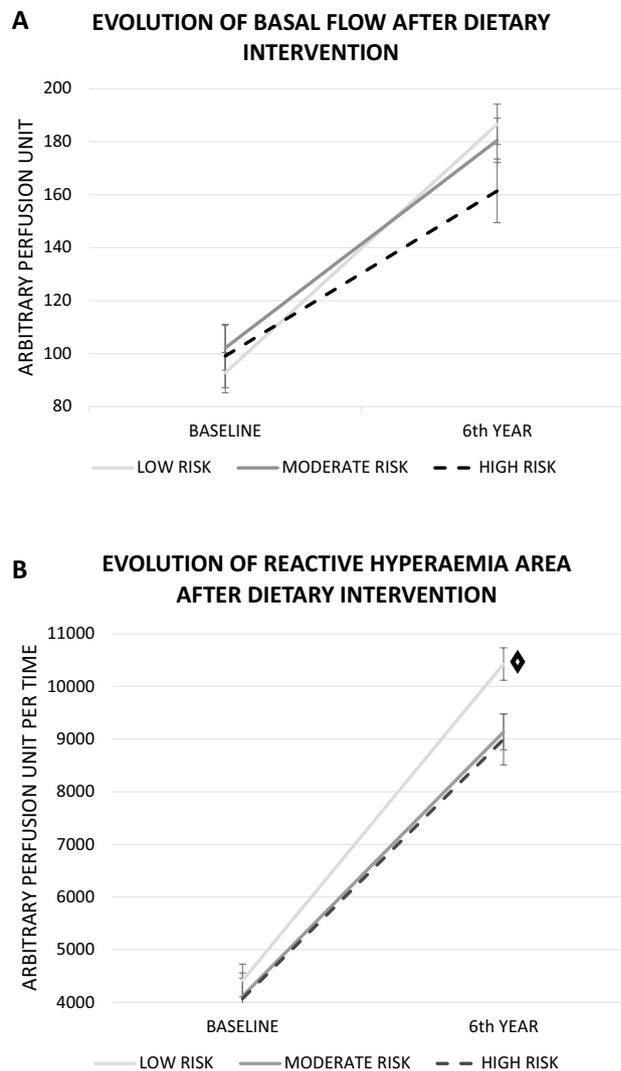


Figure 3. LASER DOPPLER FLOWMETRY (LDF). **(A)** Basal flow at baseline and after 6 years according to TRS2P risk groups. **(B)** Hyperaemia area at baseline and after 6 years according to TRS2P risk groups. ◊ indicates significant differences between low-risk versus moderate- and high-risk groups ($p < 0.05$).

Data availability

Data supporting the findings of this study may be requested to the corresponding author. Property of Data Policy from the Cordioprev Study apply to this article.

Received: 20 July 2021; Accepted: 22 September 2021

Published online: 13 October 2021

References

1. Deanfield, J. E., Halcox, J. P. & Rabelink, T. J. Endothelial function and dysfunction: Testing and clinical relevance. *Circulation* **115**(10), 1285–1295. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.652859> (2007).
2. Hansson, G. K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease. *N. Engl. J. Med.* **352**(16), 1685–1695. <https://doi.org/10.1056/nejmra043430> (2005).
3. Flammer, A. J. *et al.* The assessment of endothelial function: From research into clinical practice. *Circulation* **126**(6), 753–767. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245> (2012).
4. Brunner, H. *et al.* Endothelial function and dysfunction. Part II: Association with cardiovascular risk factors and diseases. A statement by the Working Group on Endothelins and Endothelial Factors of the European Society of Hypertension. *J. Hypertens.* **23**(2), 233–246. <https://doi.org/10.1097/00004872-200502000-00001> (2005).

5. Torres-Peña, J. D., Rangel-Zuñiga, O. A., Alcalá-Díaz, J. F., Lopez-Miranda, J. & Delgado-Lista, J. Mediterranean diet and endothelial function: A review of its effects at different vascular bed levels. *Nutrients* **12**(8), 1–22. <https://doi.org/10.3390/nu12082212> (2020).
6. Fuentes, F. *et al.* Chronic effects of a high-fat diet enriched with virgin olive oil and a low-fat diet enriched with α -linolenic acid on postprandial endothelial function in healthy men. *Br. J. Nutr.* **100**(1), 159–165. <https://doi.org/10.1017/S000711450888708> (2008).
7. Phillips, S. A. *et al.* Benefit of low-fat over low-carbohydrate diet on endothelial health in obesity. *Hypertension* **51**(2), 376–382. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.107.101824> (2008).
8. Delgado-Lista, J. *et al.* Mediterranean diet and cardiovascular risk: beyond traditional risk factors. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* **56**(5), 788–801. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.726660> (2016).
9. Schwingshackl, L. & Hoffmann, G. Mediterranean dietary pattern, inflammation and endothelial function: A systematic review and meta-analysis of intervention trials. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **24**(9), 929–939. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2014.03.003> (2014).
10. Torres-Peña, J. D. *et al.* Mediterranean diet improves endothelial function in patients with diabetes and prediabetes: A report from the CORDIOPREV study. *Atherosclerosis* **269**, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2017.12.012> (2018).
11. Yubero-Serrano, E. M. *et al.* Mediterranean diet and endothelial function in patients with coronary heart disease: An analysis of the CORDIOPREV randomized controlled trial. *PLoS Med.* **17**(9), e1003282. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PMED.1003282> (2020).
12. Mohler, E. R. *et al.* Endothelial function and weight loss: Comparison of low-carbohydrate and low-fat diets. *Obesity* **21**(3), 504–509. <https://doi.org/10.1002/oby.20055> (2013).
13. Barbosa-Yañez, R. L. *et al.* Acute endothelial benefits of fat restriction over carbohydrate restriction in type 2 diabetes mellitus: Beyond carbs and fats. *Nutrients* **10**(12), 1859. <https://doi.org/10.3390/nu10121859> (2018).
14. Seligman, B. G. S. *et al.* Intensive practical lifestyle intervention improves endothelial function in metabolic syndrome independent of weight loss: A randomized controlled trial. *Metabolism* **60**(12), 1736–1740. <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2011.05.006> (2011).
15. Wycherley, T. P. *et al.* Long-term effects of weight loss with a very-low carbohydrate, low saturated fat diet on flow mediated dilation in patients with type 2 diabetes: A randomised controlled trial. *Atherosclerosis* **252**, 28–31. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.07.908> (2016).
16. Corretti, M. C. *et al.* Guidelines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: A report of the international brachial artery reactivity task force. *J. Am. Coll. Cardiol.* **39**(2), 257–265. [https://doi.org/10.1016/S0735-1097\(01\)01746-6](https://doi.org/10.1016/S0735-1097(01)01746-6) (2002).
17. Levy, B. I. *et al.* Impaired tissue perfusion a pathology common to hypertension, obesity, and diabetes mellitus. *Circulation* **118**(9), 968–976. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.763730> (2008).
18. Ibrahim, K. *et al.* Reproducibility and agreement of different non-invasive methods of endothelial function assessment. *Microvasc. Res.* **117**, 50–56. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2018.01.004> (2018).
19. Jekell, A., Kalani, M. & Kahan, T. The interrelation of endothelial function and microvascular reactivity in different vascular beds, and risk assessment in hypertension: Results from the Doxazosin–ramipril study. *Heart Vessels* **34**(3), 484–495. <https://doi.org/10.1007/s00380-018-1265-7> (2019).
20. Debbabi, H., Bonnin, P., Ducluzeau, P. H., Lefthériotis, G. & Levy, B. I. Noninvasive assessment of endothelial function in the skin microcirculation. *Am. J. Hypertens.* **23**(5), 541–546. <https://doi.org/10.1038/ajh.2010.10> (2010).
21. Agarwal, S. C., Allen, J., Murray, A. & Purcell, I. F. Laser Doppler assessment of dermal circulatory changes in people with coronary artery disease. *Microvasc. Res.* **84**(1), 55–59. <https://doi.org/10.1016/j.mvr.2012.02.002> (2012).
22. Cracowski, J. L., Minson, C. T., Salvat-Melis, M. & Halliwill, J. R. Methodological issues in the assessment of skin microvascular endothelial function in humans. *Trends Pharmacol. Sci.* **27**(9), 503–508. <https://doi.org/10.1016/j.tips.2006.07.008> (2006).
23. Ruano, J. *et al.* Phenolic content of virgin olive oil improves ischemic reactive hyperemia in hypercholesterolemic patients. *J. Am. Coll. Cardiol.* **46**(10), 1864–1868. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.06.078> (2005).
24. Jiménez-Morales, A. I. *et al.* NOS3 Glu298Asp polymorphism interacts with virgin olive oil phenols to determine the postprandial endothelial function in patients with the metabolic syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**(10), E1694–702. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-1056> (2011).
25. Marin, C. *et al.* Mediterranean diet reduces endothelial damage and improves the regenerative capacity of endothelium. *Am. J. Clin. Nutr.* **93**(2), 267–274. <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.006866> (2011).
26. Bohula, E. A. *et al.* Atherothrombotic risk stratification and the efficacy and safety of vorapaxar in patients with stable ischemic heart disease and previous myocardial infarction. *Circulation* **134**(4), 304–313. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.115.019861> (2016).
27. Delgado-Lista, J. *et al.* CORonary Diet Intervention with Olive oil and cardiovascular PREvention study (the CORDIOPREV study): Rationale, methods, and baseline characteristics A clinical trial comparing the efficacy of a Mediterranean diet rich in olive oil versus a low-fat diet on cardiovascular disease in coronary patients. *Am. Heart J.* **177**, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2016.04.011> (2016).
28. Bohula, E. A. *et al.* Atherothrombotic risk stratification and ezetimibe for secondary prevention. *J. Am. Coll. Cardiol.* **69**(8), 911–921. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.11.070> (2017).
29. Bohula, E. A. *et al.* Atherothrombotic risk stratification and magnitude of benefit of evolocumab in Fourier. *Circulation* **136**(Supplement 1), A20183 (2017).
30. Bergmark, B. A. *et al.* Risk assessment in patients with diabetes with the TIMI risk score for atherothrombotic disease. *Diabetes Care* **41**(3), 577–585. <https://doi.org/10.2337/dc17-1736> (2018).
31. Rossi, R. *et al.* Flow-mediated vasodilation and the risk of developing hypertension in healthy postmenopausal women. *J. Am. Coll. Cardiol.* **44**(8), 1636–1640. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2004.07.027> (2004).
32. Mordi, I., Mordi, N., Delles, C. & Tzemos, N. Endothelial dysfunction in human essential hypertension. *J. Hypertens.* **34**(8), 1464–1472. <https://doi.org/10.1097/HJH.0000000000000965> (2016).
33. Serné, E. H. *et al.* Capillary recruitment is impaired in essential hypertension and relates to insulin's metabolic and vascular actions. *Cardiovasc. Res.* **49**(1), 161–168. [https://doi.org/10.1016/S0008-6363\(00\)00198-X](https://doi.org/10.1016/S0008-6363(00)00198-X) (2001).
34. Hellmann, M., Roustit, M. & Cracowski, J. L. Skin microvascular endothelial function as a biomarker in cardiovascular diseases?. *Pharmacol. Rep.* **67**(4), 803–810. <https://doi.org/10.1016/j.pharep.2015.05.008> (2015).
35. Settergren, M., Böhm, F., Rydén, L., Pernow, J. & Kalani, M. Lipid lowering versus pleiotropic effects of statins on skin microvascular function in patients with dysglycaemia and coronary artery disease. *J. Intern. Med.* **266**(5), 492–498. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2796.2009.02128.x> (2009).
36. Reriani, M. K. *et al.* Effects of statins on coronary and peripheral endothelial function in humans: A systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Eur. J. Cardiovasc. Prev. Rehabil.* **18**(5), 704–716. <https://doi.org/10.1177/1741826711398430> (2011).
37. Shannon, O. M. *et al.* Mediterranean diet increases endothelial function in adults: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J. Nutr.* **150**(5), 1151–1159. <https://doi.org/10.1093/jn/nxaa002> (2020).

38. Klonizakis, M., Alkhatib, A., Middleton, G. & Smith, M. F. Mediterranean diet- and exercise-induced improvement in age-dependent vascular activity. *Clin. Sci.* **124**(9), 579–587. <https://doi.org/10.1042/CS20120412> (2013).
39. Korakas, E., Dimitriadis, G., Raptis, A. & Lambadiari, V. Dietary composition and cardiovascular risk: A mediator or a Bystander?. *Nutrients* **10**(12), 1912. <https://doi.org/10.3390/nu10121912> (2018).
40. Yubero-Serrano, E. M., Lopez-Moreno, J., Gomez-Delgado, F. & Lopez-Miranda, J. Extra virgin olive oil: More than a healthy fat. *Eur. J. Clin. Nutr.* **72**(Table 1), 8–17. <https://doi.org/10.1038/s41430-018-0304-x> (2019).
41. Estruch, R. *et al.* Primary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet. *N. Engl. J. Med.* **368**(14), 1279–1290. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1200303> (2013).
42. Estruch, R. Anti-inflammatory effects of the Mediterranean diet: The experience of the PREDIMED study. *Proc. Nutr. Soc.* **69**, 333–340. <https://doi.org/10.1017/S0029665110001539> (2010).

Author contributions

J.L.-M, P.P.-M and J.D.-L. conceived the topic ; M.M.-O, J.D.T.-P and A.A.-L drafted the manuscript; J.F.A.-D and P.P.-O formatted the bibliography; All authors reviewed the drafted manuscript; M.M.-O, J.D.T.-P, J.F.A.-D, J.L.-M, P.P.-M, N.K and J.D.-L revised the final manuscript; All authors accepted the final manuscript; All authors made significant contributions to this article.

Funding

We received funding from CITOLIVA, CEAS, Junta de Andalucía (Consejería de Salud, Consejería de Agricultura y Pesca, Consejería de Innovación, Ciencia y Empresa), Diputaciones de Jaén y Córdoba, Centro de Excelencia en Investigación sobre Aceite de Oliva y Salud and Ministerio de Medio Ambiente, Medio Rural y Marino and the Spanish Government. This work was also partly supported by research grants from the Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2009-122270 to J L-M, FIS PI10/01041 to P P-M, FIS PI13/00023 to J D-L); Ministerio de Economía y Competitividad (AGL2012/39615 to J L-M); Consejería de Salud, Junta de Andalucía (PI0193/09 to J L-M, PI-0252/09 to J D-L, and PI-0058/10 to P P-M, PI-0206-2013 to A G-R); Proyecto de Excelencia, Consejería de Economía, Innovación, Ciencia y Empleo (CVI-7450 to J L-M); Antonio Pablo Arenas-Larriva is supported by an ISCIII research contract (Programa Río-Hortega). The study was also co-financed by the Fondo Europeo de Desarrollo Regional (FEDER). The CIBEROBN is an initiative of the Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain. The funding bodies had no role in the study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests

The authors declare no competing interests.

Additional information

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99514-3>.

Correspondence and requests for materials should be addressed to J.L.-M. or J.D.-L.

Reprints and permissions information is available at www.nature.com/reprints.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

© The Author(s) 2021